



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Actividad antioxidante y fotoprotectora UVB in vitro de una crema dermocosmética elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada)

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Konny Dorine MEDINA HUAMÁN

Maria de los Milagros ECHAIZ VELIZ

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Medina K, Echaiz M. Actividad antioxidante y fotoprotectora UVB in vitro de una crema dermocosmética elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2019.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Actividad antioxidante y fotoprotectora UVB *in vitro* de una crema dermocosmética elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada)

Que presentan las Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

**KONNY DORINE MEDINA HUAMÁN Y
MARÍA DE LOS MILAGROS ECHAIZ VELIZ**

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

Sobresaliente, Dieciocho (18)

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 07 de junio de 2019


Dra. Yadira Fernández Jeri
Presidenta


Q.F. Omar Hugo Santa María Chávez
Miembro


Q.F. Fritz Fedor Choquesillo Peña
Miembro


Med. José Ángel Mercedes Ortiz Rodríguez
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú
Teléfonos: (511) 619-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 – Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



AGRADECIMIENTOS

A nuestros docentes asesores Dr. César Máximo Fuertes Ruitón y Q.F. Paul Iván Gutiérrez Elescano por demostrarnos su profesionalismo y apoyo incondicional para el éxito en la realización de este trabajo de Tesis.

DEDICATORIA:

El presente trabajo va dedicado a Dios, por ser mi guía y otorgarme oportunidades que me han permitido crecer como ser humano. Por brindarme paciencia, sabiduría y fortaleza para cumplir mis objetivos con éxito.

De forma especial a mis padres, Rosario y Domingo, por su amor, apoyo y confianza depositada en mí. Gracias a su ejemplo, valores y consejos he podido culminar mi carrera profesional y son el pilar fundamental para perseverar por mis sueños.

A mi hermano Edwin, toda mi familia y amigos por creer en mí y siempre brindarme palabras de aliento, este nuevo logro es en gran parte gracias a ustedes.

A mis maestros por su dedicación, aporte a la investigación y por haber compartido sus conocimientos a lo largo de mi etapa universitaria, que hoy en día me han preparado para afrontar retos en mi profesión.

Konny Medina Huamán

DEDICATORIA:

Entrego todo mi esfuerzo a la memoria de mi madre María Luisa, mi ángel,
quien ha sido mi motivación para poder seguir siempre adelante.

A mi papá Luis Humberto, por el extraordinario trabajo en formar dos
ciudadanas de bien.

A mi hermana Elizabeth, por ser mi apoyo incondicional, hemos pasado los
mejores y peores momentos de nuestras vidas siempre juntas.

A mis sobrinos Fausto y Jannis, para que sean siempre los mejores.

A mi profesión, a la cual honraré siempre y jamás defraudaré, demostrando que
se puede llegar muy lejos y lograr el éxito con responsabilidad, compromiso y
pasión por la profesión.

Maria Echaiz Veliz

ÍNDICE

RESUMEN	x
SUMMARY	xi
INTRODUCCIÓN	1
I. EL PROBLEMA Y OBJETIVOS	3
1.1 Planteamiento del problema	3
1.2 Justificación de la Investigación	3
1.3 Hipótesis	4
1.4 Variables	4
1.5Objetivos	5
II. MARCO TEÓRICO	6
2.1 Antecedentes	6
2.2 <i>Dioscorea trifida</i> L.f “sacha papa morada”	12
2.2.1 Clasificación taxonómica y distribución geográfica	12
2.2.2 Descripción botánica	12
2.3 Aspectos químicos	13
2.3.1 Composición química	13
2.3.2 Radiación solar	18
2.4 Actividad antioxidante	19
2.4.1. Radicales libres y especies reactivas	19
2.4.2. Estrés oxidativo	20
2.4.3 Sistema antioxidante	21
2.5 Piel y carcinogénesis cutánea	22
2.5.1 Estructura de la piel	22
2.5.2 Carcinogénesis cutánea	23
2.5.3 Fotoenvejecimiento	23
2.6 Fotoprotección	24
2.7 Formulaciones fitodermocosméticas	25
2.8 Factor de protección solar	28
III. PARTE EXPERIMENTAL	29
3.1 Materiales, equipos y reactivos	29

3.2 Metodología.....	30
3.2.1 Obtención y selección del material botánico.....	30
3.2.2 Obtención del extracto de sachá papa morada.....	30
3.2.3 Estudio farmacognóstico.....	32
3.2.4 Cromatografía en papel sistema descendente.....	32
3.2.5 Pre-formulación de la crema dermocosmética.....	32
3.2.6 Estabilidad preliminar.....	35
3.2.7 Análisis organoléptico y fisicoquímico de la pre-formulación.....	35
3.2.8 Determinación de actividad antioxidante <i>in vitro</i>	35
A. Determinación de la actividad antioxidante por el método de 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH [•]).....	35
B. Determinación de la actividad antioxidante por el método de 2,2-azinobis-(3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS ^{•+}).....	38
3.2.9 Determinación de la actividad fotoprotectora (FPS) <i>in vitro</i> frente a radiación UVB.....	40
3.2.10 Análisis estadístico.....	42
IV.RESULTADOS	44
4.1 Estudio farmacognóstico.....	44
4.1.1 Análisis organoléptico.....	44
4.1.2 Marcha fitoquímica.....	44
4.2 Cromatografía en papel sistema descendente.....	45
4.3 Características organolépticas y fisicoquímicas de la pre-formulación...	47
4.4 Determinación de actividad antioxidante <i>in vitro</i>	48
4.4.1 Actividad antioxidante por Ensayo DPPH [•]	48
4.4.2 Actividad antioxidante por ensayo ABTS ^{•+}	55
4.5 Determinación de la actividad fotoprotectora (FPS) <i>in vitro</i> frente a radiación UVB.....	61
V. DISCUSIÓN.....	63
VI.CONCLUSIONES.....	70
VII.RECOMENDACIONES.....	71
VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
IX. ANEXOS.....	81

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Pre-formulación de la crema con el extracto acuoso liofilizado de <i>Dioscorea trifida</i> L.f.....	34
Tabla 2. Volúmenes de trabajo para el ensayo DPPH•.....	37
Tabla 3. Volúmenes de trabajo para el ensayo ABTS•+	40
Tabla 4. Correlación entre el efecto eritemogénico (EE) y la intensidad de radiación (I) conforme la longitud de onda (λ).....	42
Tabla 5. Características organolépticas del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de <i>Dioscorea trifida</i> L.f.....	44
Tabla 6. Marcha fitoquímica del extracto acuoso liofilizado de <i>Dioscorea trifida</i> L.f.....	44
Tabla 7. Valores de absorción UV visible de una banda de referencia de los diferentes tipos de flavonoides, especialmente antocianinas.	46
Tabla 8. Identificación de posible antocianina a partir de los valores espectrales obtenidos.....	47
Tabla 9. Características organolépticas y fisicoquímicas de la pre-formulación elaborada a base del extracto del tubérculo de <i>Dioscorea trifida</i> L.f..	47
Tabla 10. Actividad antioxidante del Trolox® utilizando el método DPPH•.....	48
Tabla 11. Actividad antioxidante del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de <i>Dioscorea trifida</i> L.f. utilizando el método DPPH•	48
Tabla 12. Actividad antioxidante de la crema base (F1) utilizando el método DPPH•	50
Tabla 13. Actividad antioxidante de la crema al 1% (F2) utilizando el método DPPH•.....	51
Tabla 14. Actividad antioxidante de la crema al 3% (F3) utilizando el método DPPH•	52
Tabla 15. Actividad antioxidante de la crema al 5% (F4) utilizando el método DPPH•	53
Tabla 16. Actividad antioxidante del Trolox® utilizando el método ABTS•+	55

Tabla 17. Actividad antioxidante del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de <i>Dioscorea trifida</i> L.f. utilizando el método ABTS ^{•+}	55
Tabla 18. Actividad antioxidante de la crema base (F1) utilizando el método ABTS ^{•+}	57
Tabla 19. Actividad antioxidante de la crema al 1% (F2) utilizando el método ABTS ^{•+}	58
Tabla 20. Actividad antioxidante de la crema al 3% (F3) utilizando el método ABTS ^{•+}	59
Tabla 21. Actividad antioxidante de la crema al 5% (F4) utilizando el método ABTS ^{•+}	60
Tabla 22. Valores de IC50 para los métodos de DPPH [•] y ABTS ^{•+} de la pre-formulación que contienen 1,3 y 5% del extracto.....	61
Tabla 23. Determinación del FPS de las cremas.....	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografías en campo de recolección de <i>Dioscorea trifida</i> L.f.....	12
Figura 2. Estructuras básicas de flavonoides.....	13
Figura 3. Estructura de algunas antocianidinas de las antocianinas encontradas en la especie de <i>Dioscorea trifida</i> L.f.....	16
Figura 4. Material botánico en el lugar de recolección.....	30
Figura 5. Ecuación química de la reacción del radical libre DPPH• y un agente antioxidante	35
Figura 6. Ecuación química de la reacción de ABTS•+ con un agente antioxidante	38
Figura 7. Esquematización de la metodología.....	43
Figura 8. Cromatograma del extracto de <i>Dioscorea trifida</i> L.f. en papel Whatman N°3	45
Figura 9. Gráfico de valor espectral UV de las bandas eluidas.....	46
Figura 10. Gráfica de dispersión entre concentraciones del estándar Trolox® versus % de inhibición del radical DPPH•.....	49
Figura 11. Gráfica de dispersión entre concentraciones del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de <i>Dioscorea trifida</i> L. f. versus % de inhibición del radical DPPH•.....	49
Figura 12. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema base versus % de inhibición del radical DPPH•.....	50
Figura 13. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 1% versus % de inhibición del radical DPPH•.....	51
Figura 14. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 3% versus % de inhibición del radical DPPH•.....	52
Figura 15. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 5% versus % de inhibición del radical DPPH•.....	53
Figura 16. Comparación del IC 50 de las pre-formulaciones F1, F2, F3 y F4 por el método del radical DPPH•.....	54

Figura 17. Gráfica de dispersión entre concentraciones del estándar Trolox® versus % de inhibición del radical ABTS ^{•+}	56
Figura 18. Gráfica de dispersión entre concentraciones del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de <i>Dioscorea trifida</i> L.f. versus % de inhibición del radical ABTS ^{•+}	56
Figura 19. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema base versus % de inhibición del radical ABTS ^{•+}	57
Figura 20. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 1% versus % de inhibición del radical ABTS ^{•+}	58
Figura 21. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 3% versus % de inhibición del radical ABTS ^{•+}	59
Figura 22. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 5% versus % de inhibición del radical ABTS ^{•+}	60
Figura 23. Comparación del FPS de la pre-formulación F1, F2, F3 y F4 obtenidas por el método <i>in vitro</i> de Mansur <i>et al.</i>	62

GLOSARIO DE TÉRMINOS

DPPH[•]	: radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo
ABTS^{•+}	: ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-Sulfónico
FPS	: factor de protección solar
EROS	: Especies reactivas de oxígeno
ADN	: Acido desoxirribonucleico
IC50	: concentración inhibitoria media máxima
OMS	: Organización mundial de la Salud
UV	: radiación ultravioleta (A, B, C)
HPLC	: Cromatografía Líquida de Alta Presión y polaridad
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
ATP	: adenosín trifosfato
RPM	: revoluciones por minuto.
MAPK	: proteína quinasa activada por mitógenos
ANOVA	: análisis de varianza
SOD	: enzimas superóxido dismutasas
GSH-R	: glutatión-reductasa
GSHPx	: glutatión-peroxidasa
TEAC	: actividad antioxidante equivalente a Trolox®
CBC	: carcinoma basocelular
CCE	: carcinoma de células escamosas

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante *in vitro* de la pre-formulación, crema dermocosmética, elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) y la actividad fotoprotectora UVB de la crema dermocosmética.

Se elaboraron cremas conteniendo el extracto acuoso liofilizado: F2, F3 y F4 a concentraciones de 1%, 3% y 5% respectivamente. Se determinó la actividad antioxidante *in vitro* del extracto y las cremas por el método DPPH[•] y ABTS^{•+}. Para la determinación del FPS (factor de protección solar) de las cremas se utilizó la metodología *in vitro* desarrollada por Mansur *et al.*

Los resultados evidenciaron una alta presencia de compuestos fenólicos y flavonoides (antocianinas), que según los valores espectrales obtenidos se determinó la cianidina-3-glucósido como antocianina. Se obtuvo por el método DPPH[•] un IC₅₀ de 64.35 µg/mL para el extracto, 3.7918 mg/mL para F2, 1.9525 mg/mL para F3 y 1.5225 mg/mL para F4; por el método ABTS^{•+} 137.37 µg/mL para el extracto y 1.0271 mg/mL para F4. El FPS obtenido para F2, F3 y F4 fue de 0.4421, 0.4458 y 0.4568 respectivamente.

En base a los resultados se demostró que el extracto y la crema F4 tienen actividad antioxidante, y respecto al FPS obtenido se evidenció la ausencia de actividad como fotoprotector UVB del extracto en una crema dermocosmética.

Palabras clave: *Dioscorea trifida* L.f., antocianina, actividad antioxidante, factor de protección solar, DPPH[•], ABTS^{•+}.

SUMMARY

The objective of the present investigation was to determine the *in vitro* antioxidant activity of the pre-formulation, dermocosmetic cream, elaborated with the lyophilized aqueous extract of the tubercle of *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) and the UVB photoprotective activity of dermocosmetic cream.

Creams were prepared containing the lyophilized aqueous extract: F2, F3 and F4 at concentrations of 1%, 3% and 5% respectively. The *in vitro* antioxidant activity of the extract and the creams was determined by the DPPH[•] and ABTS^{•+} method. For the determination of the SPF (sun protection factor) of the creams was used the *in vitro* methodology developed by Mansur *et al.*

The results showed a high presence of phenolic compounds and flavonoids (anthocyanins), which according to the spectral values obtained, determined the cyanidin-3-glucoside as anthocyanin. By DPPH[•] method was obtained an IC50 of 64.35 µg/mL for the extract, 3.7918 mg/mL for F2, 1.9525 mg/mL for F3 and 1.5225 mg/mL for F4; by the ABTS^{•+} method, 137.37 µg/mL for the extract and 1.0271 mg/mL for F4. The FPS obtained for F2, F3 and F4 were 0.4421, 0.4458 and 0.4568 respectively.

Based on the results, it was demonstrated that the extract and the cream F4 have antioxidant activity, and with respect to the FPS obtained, the absence of activity as UVB photoprotector of the extract in a dermocosmetic cream was evidenced.

Key words: *Dioscorea trifida* L.f., anthocyanin, antioxidant activity, sun protection factor, DPPH[•], ABTS^{•+}.

INTRODUCCIÓN

Entre los altos índices de radiación solar registrados en el mundo, el Perú ocupa el primer lugar; esto se debe a su ubicación geográfica cerca de la línea ecuatorial, donde la radiación UV cae en forma perpendicular sobre el territorio, siendo una amenaza para la salud¹. La radiación UVB es el principal responsable del fotodaño a nivel de la piel porque actúa como agente promotor, iniciador y co-carcinogénico. Acerca de los distintos efectos adversos de la sobreexposición a la radiación UVB, tenemos la formación de EROS conllevando al desarrollo del cáncer de piel, siendo un importante problema de salud humana².

Teniendo en cuenta los efectos de la radiación UVB, es necesario considerar medidas para una protección eficiente, como evitar la exposición innecesaria al sol y utilizar sustancias con capacidad de prevenir su efecto dañino cutáneo, además de las barreras físicas como sombreros, lentes y sombrillas. Una de estas medidas es el uso de protectores solares, encontrando mayor aceptación y preferencia del consumidor por emulsiones tipo aceite en agua, cuya fórmula contiene filtros solares de amplio espectro³.

El uso de antioxidantes sintéticos es controversial debido a los estudios que evidencian su toxicidad. Por ello, la investigación de antioxidantes naturales de origen vegetal es de gran interés para la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos. La incidencia del cáncer puede ser disminuida con la ingesta de vegetales y frutos con actividad antioxidante. Entre los fitoquímicos tenemos a los compuestos fenólicos o polifenoles que protegen al organismo contra EROS y radicales libres implicados en la génesis del estrés oxidativo, los cuales causan enfermedades crónicas como el cáncer⁴.

Las moléculas más importantes de los vegetales que protegen la piel son los flavonoides, metabolitos antioxidantes que se encuentran en las plantas con la capacidad de absorber la luz ultravioleta. En específico las antocianinas se encuentran abundantemente en las frutas de color rojo púrpura o rojo a azul,

hojas, flores, raíces y semillas. Las antocianinas tienen efectos terapéuticos y un importante rol en la prevención de enfermedades debido principalmente a su potente actividad antioxidante por la capacidad de eliminación de radicales libres y con ello, el estrés oxidativo⁵.

En el reino vegetal, podemos encontrar estos compuestos en las especies vegetales del género *Dioscorea* y su uso alimenticio ha permitido conocer más sobre sus especies y por lo tanto, ser un foco de investigación de nuevas propiedades medicinales. *Dioscorea* es un género que contiene especies importantes utilizadas como alimento (tubérculos comestibles), entre ellas encontramos a *Dioscorea trifida* L.f. “sacha papa morada” como fuente rica de pigmentos antociánicos, o como fuente de sustancias bioactivas utilizadas en una variedad de aplicaciones, incluyendo medicinales⁶.

I. EL PROBLEMA Y OBJETIVOS

1.1. Planteamiento del problema

Formulación del problema

¿La crema dermocosmética elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) tendrá actividad antioxidante y fotoprotectora UVB?

1.2. Justificación de la investigación

Estudios realizados en *Dioscorea trifida* (sacha papa morada), han encontrado doce estructuras de antocianinas lo que hace que este tubérculo sea interesante como fuente de extracción de pigmentos, con posible aplicación en alimentos y en industria cosmética⁷. Entre los compuestos antioxidantes que se han encontrado en *Dioscorea trifida* (sacha papa morada) tenemos al ácido clorogénico y al ácido felúrico; además, el flavonoide rutina⁸. A ésta planta nativa de la flora peruana, se le atribuye una capacidad antioxidante debido principalmente a la presencia de compuestos fenólicos, los cuales capturan radicales libres para generar protección a las células de la dermis frente al daño oxidativo, brindando el efecto de fotoprotección⁹.

El primer lugar entre los altos índices de radiación solar que se registran en el mundo por el cambio climático, es ocupado por el Perú; esto se debe a que nos encontramos cerca de la línea ecuatorial, donde la radiación UV incide en forma perpendicular, siendo una amenaza a la salud. Entre los diversos efectos adversos de la sobreexposición a la radiación UVB, el cáncer de piel y el fotoenvejecimiento prematuro son de gran preocupación, por lo que se ha convertido en un importante problema de salud humana¹.

Por lo tanto, el desarrollo de nuevas estrategias para reducir la epidemiología o incidencia del cáncer de piel y retrasar el proceso de fotoenvejecimiento son objetivos altamente deseables¹⁰. En este sentido

Soares *et al.*¹¹ consideran que las sustancias con propiedades fotoprotectoras incorporadas en emulsiones del tipo aceite en agua o geles al ser inocuas para la piel, son la forma más eficaz para prevenir el daño causado por la exposición del epitelio al UV.

Todo lo expuesto anteriormente refuerza la idea de evaluar la actividad fotoprotectora de una pre-formulación dermocosmética con el extracto acuoso liofilizado de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) a partir del análisis de su actividad antioxidante, que va de la mano con la importancia de estudiar nuevos productos para la prevención y protección contra la radiación UV y está alineado a la tendencia mundial de desarrollar cosméticos a partir de productos naturales, aprovechando la diversidad que hay en nuestro país.

1.3. Hipótesis

La crema dermocosmética elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) tiene actividad antioxidante y fotoprotectora UVB.

1.4. Variables

1.4.1. Variable independiente

La crema dermocosmética elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) a diferentes concentraciones.

1.4.2. Variables dependientes

- Actividad antioxidante.
- Actividad fotoprotectora UVB.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general:

Determinar la actividad antioxidante y fotoprotectora UVB *in vitro* de una crema dermocosmética elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada).

1.5.2. Objetivos específicos:

1. Determinar la actividad antioxidante del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada).
2. Elaborar la pre-formulación de la crema que contenga diferentes concentraciones del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada).
3. Determinar la actividad antioxidante de la crema elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada).
4. Determinar el factor de protección solar de la crema elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) según el método de Mansur *et al.*

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Las radiaciones ultravioleta (UV) de la luz solar, se ubican entre los componentes ambientales con mayor incidencia en la inducción de daño al material genético en los organismos y están ligadas al proceso de fotocarcinogénesis².

Según Chanchal *et al.*¹² el exponernos a los rayos solares produce liberación de citoquinas inmunosupresoras y pro-inflamatorias ; además, forma radicales libres y EROS , las cuales interaccionan con el ADN, proteínas y ácidos grasos; y deterioran la piel, caracterizándose por hipopigmentación e hiperpigmentación de la dermis, pérdida de la elasticidad de la piel, formación de arrugas y posible desarrollo de cáncer.

El único beneficio ampliamente establecido de la radiación UV en la piel es la síntesis de la vitamina D que se inicia por la conversión inducida por UVB del 7-dehidrocolesterol epidérmico ¹³ en la previtamina D3.

Si la piel se somete a una exposición crónica de radiación ultravioleta (UV) del sol, se producen varias respuestas biológicas causando su daño. Estas alteraciones pueden estar directa o indirectamente involucradas en el desarrollo de cáncer¹⁴.

Ante lo expuesto, se considera al cáncer de piel como un problema de salud pública a nivel mundial, con incremento de su incidencia en los últimos años, en la región de las Américas y en nuestro país, por su alta mortalidad¹⁵.

En estadísticas a nivel mundial de los años 2012 y 2013, el cáncer de piel no melanocítico, causado por radiación UVB, es una de las neoplasias con mayor incidencia a nivel Mundial¹⁶.

El Ministerio de Salud en una publicación sobre la situación del cáncer en el Perú, incluye la publicación de la OMS, donde comentan que se presentan entre 2 a 3 millones de casos por año en el mundo, por lo que es motivo de numerosos estudios y preocupación en países desarrollados¹⁷.

En el Perú, en el período del 2000-2014, los cánceres que presentaron un mayor promedio de casos por año fueron los de cérvix, estómago, mama, piel y próstata, de los cuales, en el 2014, se reportaron 571 casos nuevos registrados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) de cáncer de piel no melanocítica¹⁸.

Las afecciones a nivel dérmico que puede producirse por la exposición prolongada a la radiación solar exige tomar medidas de protección, entre los que figuran el uso de filtros solares que contienen productos químicos con capacidad para prevenir los efectos adversos de la energía solar y muy particularmente radiación UVA y UVB. En recientes investigaciones sobre el uso extractos de plantas con propiedades antioxidantes, demuestran que pueden ser incorporados como filtros solares en cremas y aplicados tópicamente ya que presentan moléculas que podrían inactivar las EROS restaurando la homeostasis de la piel¹⁵.

¹⁹.

El uso de filtros solares debe de considerar su eficacia en las formulaciones fitocosméticas, teniendo como indicador el valor del factor de protección solar (FPS), frente a la radiación UVB. Sobre este indicador se han realizado estudios que comprueban que un aumento del FPS no representa necesariamente incrementos de reducción del eritema o son mínimos, por lo que la FDA recomienda la utilización de protectores solares con FPS 30 como máximo debido a razones de costo innecesarias y efectos secundarios al emplear concentraciones mayores de sustancias fotoprotectoras²⁰.

En Grecia, Galanakis *et al.*²¹ investigó la aplicación de diferentes concentraciones de fenoles (recuperado a partir de aguas residuales de la extracción del aceite de Oliva) como UV *booster* (potenciadores del rendimiento que optimizan la eficacia del sistema de absorción de rayos UV) en cosméticos. Los espectros (220-400 nm) de 0-15 mg de fenoles de oliva/L combinados con agentes de protección solar físicos (30 mg de TiO₂/L) y químicos (5 mg de benzofenona-3, 5 mg de Uvinul® BASF A, 2 mg de Octocrileno, 1 mg OMC y 0,5 mg OC-PABA/L) fueron obtenidos y los FPS *in vitro* de las soluciones respectivas fueron calculados. En la región UVB y UVA, la absorción de filtros UV sintéticos aumentó en función de la concentración de fenoles del olivo, mientras que la relación entre el aumento de FPS y la concentración de fenoles de olivo fue lineal. Las ecuaciones correspondientes de esta investigación podrían usarse para estimar la cantidad de fenoles de olivo añadidos con el fin de alcanzar un valor FPS deseable y reemplazar parcialmente la cantidad de filtros sintéticos en el producto final. El atrapamiento de fenoles de oliva en partículas de sílice y/o liposomas antes de su emulsificación en cosméticos también fue investigada y resultó en un aumento de la resistencia al agua de los fenoles. Los resultados de este estudio nos revelan la potencialidad del uso de aguas residuales de la extracción del aceite de olivo como fuente para la recuperación de fenoles y su aplicación como UV *booster* en cosméticos.

En las últimas décadas, la tendencia en cosmética ha ganado mayor campo en el mercado, orientándose al uso de moléculas "seguras", productos naturales, materias primas de origen vegetal, productos orgánicos. La conciencia de que los recursos naturales son agotables está llevando a más consumidores a buscar productos cosméticos más sostenibles, amigables con el medio ambiente y más seguros en su aplicación en la piel²².

En la actualidad, ya se conoce que los metabolitos de naturaleza fenólica, entre los que se encuentran los fenoles carboxilados, flavonoides en sus diferentes tipos, catequinas, estilbenos y proantocianidinas tienen actividad antiinflamatoria, inmunomoduladora, anticarcinogénica, antioxidante y fotoprotectora, debido principalmente a su estructura policromófora que presenta una gran capacidad de absorción de la radiación UV, dando estabilidad a los radicales libres por un mecanismo de deslocalización electrónica²³.

Asimismo, el Perú tiene una gran riqueza y diversidad biológica, y está en busca de revalorizar plantas nativas con propiedades terapéuticas utilizadas desde tiempos remotos, siendo una de ellas la *Dioscorea trifida* L. El género *Dioscorea*, conocido como “ñame”, es el más grande e importante de la familia Dioscoreaceae, con 644 especies aproximadamente. Entre estos, solo 10 son considerados importantes en la nutrición humana²⁴.

Según *Brack Egg* en el Perú existen unas 70 especies del género *Dioscorea*. La mayoría nativas y otras introducidas. Las principales especies cultivadas son: *Dioscorea alata* L., *Dioscorea bulbífera* L. y *Dioscorea trifida* L.²⁵.

Entre las variedades de tubérculos de ñame, es considerado el ñame mayor a la especie *Dioscorea alata* L. por ser la más ampliamente distribuida en los trópicos húmedos y semihúmedos. Algunas variedades de “ñame”, poseen una significativa actividad antioxidante y han mostrado capacidad de modificar los niveles de lípidos en suero humano. Además la presencia de dioscorina en éste género demostró propiedades de eliminación de radicales libres, actividad inmunomoduladora, así como antihipertensiva en ratas. Asimismo, diosgenina y dioscina, saponinas esteroideas, mostraron efectos antioxidantes, estrogénicos, antiinflamatorios y antitumorales²⁶.

En el Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Universidad de San Martín de Porres, se estudió la actividad antioxidante de los pigmentos extraídos a partir de *Dioscorea trifida* L., utilizando diferentes pruebas de antioxidantes, incluyendo, secuestro de los radicales libres DPPH• y ABTS•⁺; así como del anión superóxido. Los extractos de *Dioscorea trifida* L. fueron utilizados para la determinación de la actividad antioxidante en un modelo *in vitro* sobre la peroxidación lipídica en suero humano. El porcentaje mayor de inhibición fue 66,7% y se obtuvo a una concentración²⁷ de 2,06 mg/mL de la especie estudiada, y siendo el IC50 de 1,824 mg/mL.

Los pigmentos extraídos de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) son colorantes que pertenecen al grupo de las antocianinas²⁸, estas exhiben una significativa actividad antioxidante, de acuerdo a las diferentes investigaciones, constituyen un potencial beneficioso para la salud que pueden ser aplicados también en las áreas alimenticias.²⁷

En la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, se realizó el análisis bromatológico y de flavonoides de los cultivares blanco y morado de sacha papa de la región Loreto, encontrándose que la concentración de los carbohidratos, lípidos, proteínas, entre otros componentes, son similares en ambos cultivares. Este estudio concluyó que los tubérculos de los cultivares blanco y morado de *Dioscorea trifida* son similares en su composición bromatológica, pero en cuanto a los flavonoides, el cultivar morado contiene hasta 7 veces más que el cultivar blanco²⁹.

Silva *et al.*³⁰ demostraron que el extracto de la cáscara de *Spondias purpurea* L. “ciruela” tiene actividad fotoprotectora contra radiación UVB utilizando el método de Mansur *et. al.* e incorporaron el extracto en una formulación. Se identificaron en el extracto fenoles y se determinó la actividad antioxidante por el método del DPPH•. La fórmula que

contiene 30% de extracto presentó alta actividad contra radiación UVB y un valor de FPS 43 frente a la benzofenona-3 al 5% con FPS de 40.

En el marco legal establecido por la Decisión 516 sobre Armonización de legislaciones en materia de productos cosméticos, se indica que los ingredientes que se incorporen en los productos cosméticos serán aquellos incluidos en listados internacionales que puedan o no incluirse en productos cosméticos. No obstante, las Autoridades Sanitarias Competentes podrán iniciar consultas que conduzcan a incluir o excluir un ingrediente, siempre que cuenten con indicios ciertos o pruebas científicas de que el mismo afecta o pueda afectar la salud. Asimismo, se menciona como una actividad el apoyar la investigación y desarrollo de productos cosméticos con ingredientes de origen nativo, bajo este escenario el trabajo desarrollado utilizando el tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. contribuye con esta actividad³¹.

2.2. *Dioscorea trifida* L.f. “sacha papa morada”

2.2.1. Clasificación taxonómica y distribución geográfica

El género *Dioscorea* posee aproximadamente 644 entre las cuales 15 especies son comestibles y se utilizan como alimento medicinal. Se encuentra distribuida como especie nativa en el Caribe, América Central y del Sur, en regiones de clima tropical y subtropical. Requieren altos niveles de luz y tienden a crecer en los bordes de los bosques en una variedad de suelos bien drenados y con un clima donde es esencial la presencia de lluvias.⁶

La clasificación taxonómica de la planta según el Sistema de Clasificación Cronquist (1988) es el siguiente:

Reino : *Plantae*

División : *Magnoliophyta*

Clase : *Liliopsida*

Subclase : *Liliidae*

Orden : *Liliales*

Familia : *Dioscoreaceae*

Género : *Dioscorea*

Especie : *Dioscorea trifida* L.f.

Nombre vulgar: "sacha papa morada", “ñame”

2.2.2. Descripción botánica

El ñame (nombre común del género) o sacha papa morada se caracteriza por tener raíces fibrosas o tipo cabellera, crece de forma horizontal dentro de los primeros 30 cm de profundidad, con algunas raíces que llegan hasta 1 m. Las raíces principales brotan desde una estructura llamada cormo y otro tipo de raíces emergen desde el tubérculo. Son plantas diodicas con tallos delgados y provistas de 2 a 8 hojas, que son digitadas, miden hasta 25 cm de largo y presentan de 3 a 7 lóbulos³².

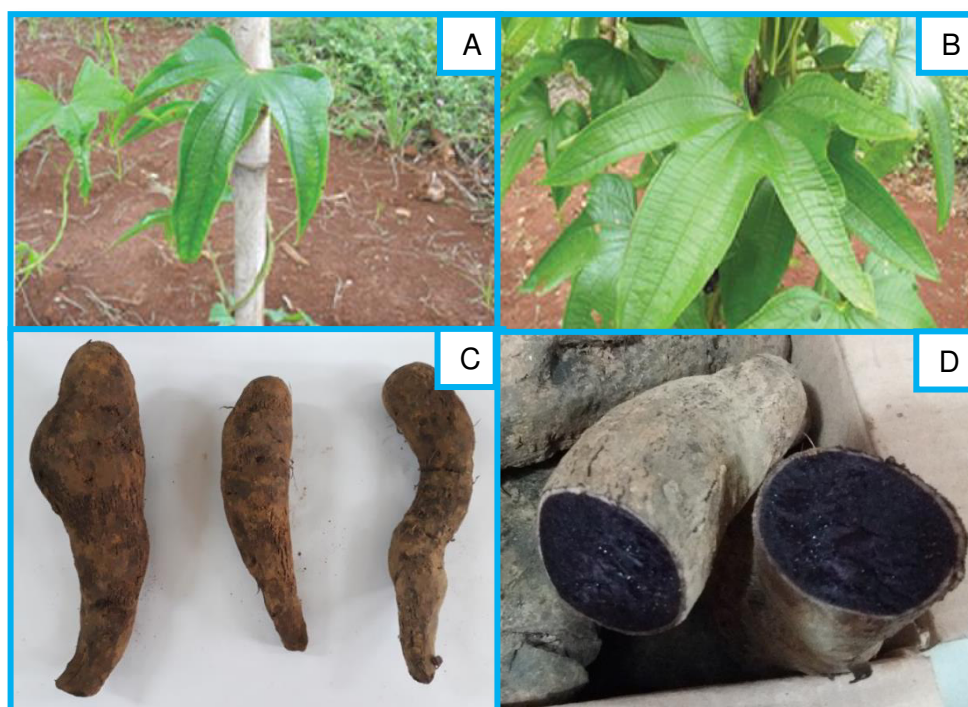


Figura 1. Recolección de *Dioscorea trifida* L.f.; A. Hojas con tres lóbulos; B. Hojas con 5 lóbulos; C. Tubérculo recolectado; D. Pulpa morada del tubérculo.

2.3. Aspectos químicos

2.3.1. Composición química: compuestos fenólicos

Los polifenoles o también llamados compuestos fenólicos, constituyen uno de los grandes grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal. Poseen, entre muchas propiedades, la capacidad antioxidante a fin de contrarrestar la oxidación producida por radicales libres, productos químicos, la luz, entre otros³³.

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que poseen en su estructura varios núcleos bencénicos sustituidos por grupos hidroxílicos y se pueden dividir dependiendo de su estructura:

A. Ácidos fenólicos: son fenoles que además contienen una función carboxílica entre estos tenemos: ácido cafeico,

ferúlico, p-cumárico y cinámico, todos derivados del ácido hidroxinámico⁸.

B. Flavonoides: se caracterizan por estar formados por dos anillos aromáticos y uno heterocíclico haciendo un sistema C6-C3-C6. Los anillos son denominados como A y B para los aromáticos y C para el heterocíclico, varían de acuerdo a los sustituyentes que pueden ser hidroxilos o metoxilos. Los flavonoides se encuentran generalmente en la naturaleza en forma de glicósido, estos pueden estar constituidos por una unidad de monosacárido o un número mayor de monosacáridos unidos por enlaces glicosídicos; los flavonoides se encuentran normalmente como glicósidos mientras que las antocianidinas son los flavonoides sin sustituyentes de monosacáridos³⁵.

Dependiendo de la posición del enlace del anillo fenil al benzopirano se lleva a cabo la clasificación que se muestra en la Figura 2.

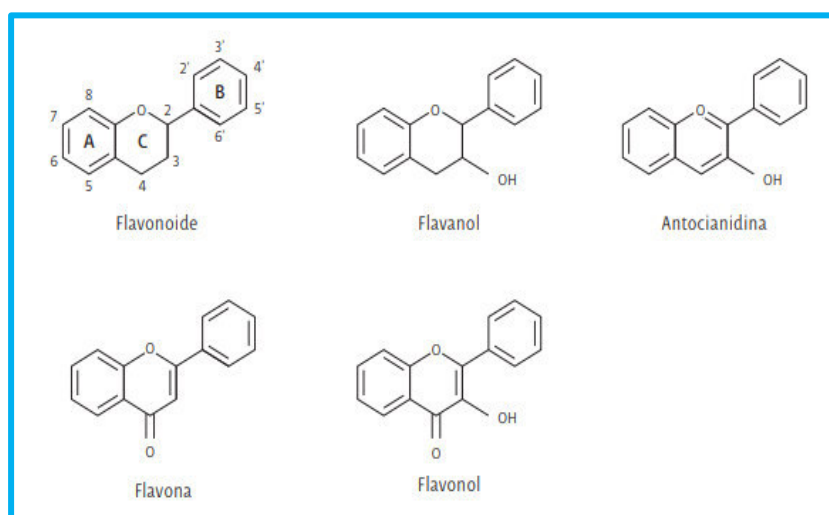


Figura 2. Estructuras básicas de flavonoides³⁷.

Los grupos más conocidos de flavonoides son flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanolles, isoflavonoides, antocianidinas y otros como las catequinas, chalconas, dihidrochalconas, leucoantocianidinas son modificaciones de los verdaderos flavonoides. Son importantes las flavonas como apigenina, luteolina y diosmetina, y los flavonoles como la quercetina, miricetina y kaempferol; estos flavonoides son abundantes en las verduras, frutas, cereales y otras semillas para la protección frente a la oxidación de los tejidos de la planta³⁶.

De acuerdo a diversos autores la capacidad antioxidante de los flavonoides se atribuye a los sustituyentes dihidroxilados en posiciones C3' y C4' del anillo B; la evidencia del enlace doble entre los átomos de carbono C2 y C3, un grupo hidroxilo libre en C3 y un grupo carbonilo en C4 presentan interés biológico y farmacológico, como se presenta en la quercetina³⁶.

Se atribuye que la actividad antioxidante de los flavonoides se debe a dos factores: las propiedades quelantes de átomos de hierro y el secuestro de los radicales libres²⁹. Se indica que esta propiedad también está relacionada con una geometría plana, ya que ésta permite una deslocalización mayor de los electrones a través de los anillos⁸.

C. Antocianinas o antocianos: son compuestos fenólicos que pertenecen a la familia de los flavonoides y forman parte del metabolismo secundario. Poseen una estructura basada en una molécula del ion flavilium, que comúnmente tiene por nombre antocianidina o aglicona, debido a la ausencia de uno o más monosacáridos, unido por un enlace glicosídico. Los glicósidos están unidos a monosacáridos (glucosa, galactosa,

ramnosa), o un disacárido (gentibiosa, rutinosa y soforosa). La unión de la molécula de antocianidina con el azúcar le confiere estabilidad y solubilidad convirtiéndose en una antocianina estable³⁸.

Poseen propiedades antioxidantes debido a que su estructura presenta una constante deslocalización de electrones que conecta a los tres anillos (A, C y B), además los grupos hidroxilo o metoxilo en diferentes posiciones los hacen potenciales antioxidantes.

En cuanto al color que adoptan las antocianinas es dependiente de la cantidad y orientación del grupo metoxilo e hidroxilo; un incremento en la hidroxilación produce un color azul, mientras un incremento en la metoxilación produce un color rojo. Los tipos más comunes de antocianidinas son. cianidina (color púrpura rojizo-magenta), delphinidina (azul rojizo o púrpura), pelargonidina (naranja), peonidina (magenta), petunidina (rojo oscuro-púrpura) y malvidina (azul-rojo oscuro)⁵.

Estudios demostraron que el tono de las antocianinas depende del tipo de acilación y sustitución glicosídica; es por ello que sustituciones glicosídicas y acilaciones aromáticas en C5, producen una tendencia a tonalidades púrpuras. También la presencia de estas sustituciones en las posiciones C3 y C5 con mono, di o trisacáridos aumentan la solubilidad de la antocianina³⁹.

La propiedad antioxidante óptima está relacionada con la presencia de grupos cromóforos, formados esencialmente por los dobles enlaces carbono-carbono y carbonilo que se relacionan entre sí permitiendo la deslocalización electrónica,

asimismo los grupos auxocromos como los hidroxilos y metoxilos en las posiciones C3 del anillo C y C5 del anillo A⁴⁰.

Los hidroxilos en la posición 5 y 7 del anillo A también pueden contribuir a la actividad antioxidante. Cuando la molécula de la antocianidina (forma agliconada de la antocianina) posee sustituyentes glicosilados, específicamente en el carbono 3, la actividad antioxidante disminuye.

Por otra parte, la conformación individual de cada antocianina, juega un rol importante en la actividad antioxidante. La posición y número de hidroxilaciones y metoxilaciones en el anillo B influirá en la actividad antioxidante. Conforme aumentan los sustituyentes metoxilados en el anillo B de la antocianina, la actividad antioxidante puede verse disminuida⁴⁰.

Se ha encontrado que extractos de antocianinas obtenidos de la papa morada, presentaron la capacidad de secuestrar los radicales libres (EROS) formados por excesos de una elevada temperatura en hojas de *Arabidopsis*.

Por ello las antocianinas tienen funciones como fotoprotectores y evitar la fotooxidación, protegiendo a las hojas senescentes o también fungen como barrera protectora de los cloroplastos jóvenes que son lábiles a la luz. Además, reducen la fotoinhibición en las plantas, debido a que las antocianinas y la clorofila b absorben en la misma región de 520 a 530 nm³⁸.

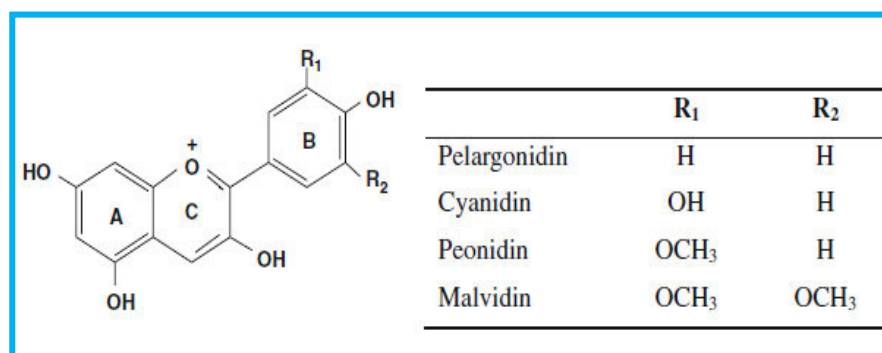


Figura 3. Estructura de algunas antocianidinas de las antocianinas encontradas en la especie de *Dioscorea trifida* L.⁷

2.3.2. Radiación solar

Es de gran interés el conocer la intensidad de la radiación, así como la longitud de onda o intervalo espectral, fundamental para conocer los efectos de la radiación. El sol emite un amplio espectro de radiaciones, desde rayos gamma hasta longitudes de onda largas, de tipo infrarrojo².

Antes de su ingreso en la atmósfera, la radiación solar contiene aproximadamente un 10% de radiación UV, un 40% de radiación visible y un 50% que corresponde al IR próximo. Estas proporciones sufren cambios después de atravesar la atmósfera, ya que su incremento depende notablemente de la longitud de onda⁴¹.

La radiación UV está compuesta por tres regiones: UVC (200 a 280 nm), UVB (280 a 320 nm) y UVA (320 a 400 nm). Los rayos UVA componen el 90-95% del espectro solar, sin embargo solo causan 10% del daño, conduciendo a la aparición de tumores malignos y benignos. Los rayos UVB representan el 5% de la radiación solar, pero es a su vez el principal responsable del fotodaño a nivel de la piel actuando como agente promotor, iniciador y co-carcinogénico. Los rayos UV producen en la piel

efectos carcinogénicos tales como daño en el ADN, formación de EROS e inmunosupresión. En individuos expuestos a radiación ultravioleta se observó una disminución de la hipersensibilidad mediada por células T y reducción dosis dependiente de la actividad de las células asesinas².

La absorción de radiación UVB a nivel del ADN, generan la alteración en las pirimidinas de una cadena adyacente y/o desregulación de la proteína p53, conllevando a una posible pérdida del control del genoma y una expansión clonal de las células, generando así lesiones preneoplásicas como los CBC, CCE y queratosis actínica. En el estrato córneo de la piel se produce el ácido urocánico, el cual contribuye a la producción de EROS y a la vez induce inmunosupresión, disminución de las células de Langerhans y alteración del funcionamiento de las células natural killers. El estrés oxidativo inducido por radiación UV es mediado por fosforilación de proteínas MAPK kinasas, que tienen un rol importante en la provocación y coordinación de las respuestas de genes en el daño inducido los rayos UV. Además estas proteínas han mostrado ser activadas por factores promotores de tumores y factores de crecimiento⁵⁰.

2.4. Actividad antioxidante

2.4.1. Radicales libres y especies reactivas

Los radicales libres son definidos como moléculas capaces de existir de forma independiente conteniendo por lo menos un electrón desapareado, de esta manera el radical libre se vuelve muy inestable y muy reactivo, capaz de unirse inespecíficamente con las biomoléculas del organismo como las proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, polisacáridos a través de diferentes reacciones bioquímicas como la óxido-reducción. Este mecanismo genera daños mutágenicos y carcinogénicos con secuelas de enfermedades en la peroxidación lipídica⁴².

El oxígeno es vital para la vida ya que es usado por los organismos aeróbicos para aumentar la extracción de energía proveniente de los nutrientes, mediante su oxidación y liberación en forma de adenosín trifosfato (ATP). Pero a su vez, estudios han demostrado que este elemento vital en ciertas situaciones puede llegar a tener efectos nocivos, debido a la formación y actividad principalmente de las especies reactivas de oxígeno (EROS)⁴³.

Los radicales libres, que contienen oxígeno, más importantes en muchos estados patológicos son el radical hidroxilo, el radical anión superóxido, el peróxido de hidrógeno, el oxígeno singlete, el hipoclorito, el radical óxido nítrico y el radical peroxinitrito⁴⁴.

Un balance redox intracelular es crucial para asegurar el crecimiento y las diversas funciones celulares, entendiendo esto, las EROS y los radicales libres se producen de forma natural en el organismo debido al propio metabolismo aeróbico de las células tales como el metabolismo mitocondrial, síntesis de prostaglandinas, actividad del citocromo P-450, de los peroxisomas, fagocitosis, etc. Sin embargo, una parte importante de la producción de las EROS y radicales libres son favorecidas por fuentes exógenas, entre las cuales se puede mencionar la contaminación ambiental, la radiación solar, exposición a rayos X, al ozono, al tabaco, productos químicos industriales, la dieta, incluidos ciertos medicamentos^{45,46}.

2.4.2. Estrés oxidativo

Es el resultado del desequilibrio entre la generación de radicales libres y las defensas antioxidantes, asociado con daño a diversas estructuras celulares principalmente lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. El estrés oxidativo a corto plazo puede ocurrir en tejidos lesionados por traumatismo, infección, toxinas, lesión por

calor, hipertoxia y ejercicio excesivo. Estos tejidos lesionados producen un aumento de las enzimas generadoras de radicales (xantina oxidasa, lipogenasa, ciclooxigenasa), activación de los fagocitos, liberación de hierro libre, iones de cobre o una alteración de las cadenas de transporte de electrones de la fosforilación oxidativa, que produce un exceso de EROS⁴².

Este desequilibrio presente en el estrés oxidativo se ha relacionado con el inicio, la promoción y la progresión de la carcinogénesis y mutagénesis celular. De manera principal podemos explicar los daños causados por las EROS en el ADN, con modificación de la base de ruptura de la hebra y los enlaces cruzados de la proteína del ADN. Muchos experimentos proporcionan claramente evidencias de que el ADN y el ARN son susceptibles al daño oxidativo. Se ha informado que, especialmente en el envejecimiento y el cáncer, el ADN se considera un objetivo importante. Se ha informado de que el ADN mitocondrial es más susceptible al daño oxidativo que tiene un papel en muchas enfermedades, incluido el cáncer⁴³.

2.4.3. Sistema antioxidante

Reforzando los sistemas de defensa celular y disminuyendo el estrés oxidativo causado por la radiación es el factor principal para prevenir la carcinogénesis inducida por los rayos UV⁵⁰.

Un antioxidante es una molécula lo suficientemente estable como para interactuar de manera segura y terminar la reacción en cadena producida por los radicales libres, esto ocurre en la fase de la terminación cuando dos radicales libres se unen, o cuando el radical libre se confina en el sistema de electrones del agente antioxidante y anula la capacidad dañina. Tanto los antioxidantes enzimáticos como los no enzimáticos existen en el ambiente intracelular y extracelular para desintoxicar las EROS⁴⁴.

Los sistemas antioxidantes endógenos están conformados por las enzimas superóxido dismutasas (SODs), glutatión-reductasa (GSH-R), glutatión-peroxidasa (GSHPx) y catalasa. Estas enzimas conforman al sistema de defensa contra el estrés oxidativo celular y son depurativos de los radicales libres^{47,48}.

Otros sistemas que eliminan radicales libres provienen de los micronutrientes constituido por las vitaminas E y C, además del β -caroteno. Este grupo de antioxidantes son de naturaleza exógena, el organismo lo adquiere en la dieta.⁴²

Los ácidos grasos del tipo omega 3 se caracterizan porque sus estructuras presentan enlaces π , de acuerdo a una investigación la suplementación de estos ácidos durante tres meses ocasiona la disminución de eritema cutáneo producido por exposición a la radiación UV⁴⁹.

En otro trabajo, el α -tocoferol y glutatión del organismo experimenta una disminución en pacientes con queratosis actínica y carcinoma basocelular⁵⁰.

2.5. Piel y carcinogénesis cutánea

2.5.1. Estructura de la piel

La piel brinda protección contra agentes patógenos, permeabilidad, termorregulación, sensaciones, protección frente a la luz ultravioleta (UV), reparación y regeneración de heridas⁵¹.

La epidermis es una barrera impermeable frente a la penetración de sustancias químicas y de líquidos gracias a la capa córnea, que está constituida como la consecuencia de la maduración de los queratinocitos⁵².

En la piel se encuentra una variedad de sustancias que se comportan como pigmentos, brindando el color característico de cada individuo, la melanina es el pigmento más importante, que protege de la acción de la luz solar, estableciéndose los fototipos de piel, dependiendo del color de piel blanca, morena o negra y el bronceado producido por la exposición a la radiación UV. El fototipo es la capacidad de adaptación a los rayos solares, cuanto más baja es la capacidad de adaptación, menos efecto producirá los rayos solares en la piel⁵³.

2.5.2. Carcinogénesis cutánea

Los queratinocitos de la piel son fuente de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa, que pueden combatir la producción de EROS generados por la exposición a la radiación UV, pero una sobreexposición puede alterar los sistemas defensivos celulares y alterar la homeostasis de la piel, y promover la oxidación de lípidos, ADN y proteínas⁵⁰.

Existen muchos indicios de que el cáncer cutáneo es producido por los radicales libres y en general especies reactivas de oxígeno, participan en las tres etapas de la carcinogénesis y mutagénesis⁵⁴.

La radiación UV en la piel también genera especies reactivas del nitrógeno, capaces de promover la oxidación de lípidos, proteínas y ADN. La oxidación de estas biomoléculas está implicada en la aparición de cáncer de piel.

Se ha visto que las EROS tendrían un efecto procancerígeno mediado por la producción de inflamación cutánea, llegando a ser mayor a las seis horas luego de la fotosensibilización, evidenciándose con cambios histológicos. Estudios comprueban

que el recambio y la proliferación celular son afectados por la inflamación, predisponiendo así aparición de neoplasias⁵⁰.

2.5.3. Fotoenvejecimiento

Dependiendo de la cantidad y forma de la radiación UVB, así como del tipo de piel del individuo, causa un envejecimiento prematuro de la piel, denominado fotoenvejecimiento. La radiación UV solar tiene un efecto profundo en la piel expuesta, produciendo cambios acelerados de envejecimiento que consisten en arrugas finas y gruesas, textura áspera de la piel, sequedad, telangiectasia y anomalías de la despigmentación. Los estudios han sugerido que las EROS son mediadores críticos de los procesos de fotoenvejecimiento y fotocarcinogénesis. Las EROS pueden modificar proteínas en el tejido para formar derivados carbonílicos, que se acumulan en la dermis papilar de la piel fotodañada^{55,56}.

2.6. Fotoprotección

Existen productos que brindan fotoprotección debido a que contienen en su composición sustancias o agentes que bloquean los rayos UV e IR. Estas sustancias pueden ser:

Filtros químicos

Moléculas orgánicas que tienen grupos cromóforos en la región UV. Captan y transforman energía en otra con longitud de onda diferente, que no es dañina para la piel. Su principal ventaja es su cosmetividad final debido a que no se ve a simple vista; sin embargo, puede producir algunas reacciones alérgicas. Son los más usados y en combinación con filtros físicos. Actúan como cromóforos y absorben energía. En el mecanismo de incidencia un fotón sobre el filtro químico, éste absorbe la energía, y al regresar a su estado inicial libera el exceso de energía como radiación fluorescente o convirtiéndose en un isómero o fotoproducto relativamente activo³⁴.

Filtros físicos

Polvos inorgánicos inertes formados por pequeñas partículas. Reflejan todas las radiaciones solares (UV, visible e IR), además de ser de amplio espectro con independencia de su longitud de onda. Tienen como desventaja que a concentraciones mayores de 5%, aplicarlos se torna antiestético para el usuario; aunque es corregido cuando se aplica la nanotecnología, es decir al reducir el tamaño de las partículas hasta alcanzar 20 a 50 nm de diámetro por partícula; entre los polvos inertes tenemos el óxido de zinc, dióxido de titanio, óxido de hierro, óxido de magnesio, mica y talco⁵⁷.

Filtros órgano-minerales

Son filtros químicos insolubles, así que comparten las ventajas de los químicos (cosmeticidad) y de los físicos (seguridad). Son considerados como parte de la fotoprotección total del futuro. Tienen una gran capacidad filtrante en el rango UVA. Derivan del benzotriazol: Tinosorb® M⁵⁷.

Filtros biológicos

Antioxidantes que evitan la formación de radicales libres y, por ende, potencian el subsistema inmunológico cutáneo. De esta manera potencian la protección que otorgan los filtros convencionales y minimizan el daño celular que podría ser la causa del fotoenvejecimiento y cáncer de piel. La mayor parte de estos filtros son vitaminas con propiedades antioxidantes (vitaminas A, C y E), y también son consideradas otras sustancias con actividad quelante del hierro (flavonoides) o oligoelementos que aumentan la actividad de las enzimas antioxidantes de la piel. Las más utilizadas son la vitamina E y A en forma de acetato o palmitato⁵⁷.

2.7. Formulaciones fitodermocosméticas

En la actualidad, los filtros solares sintéticos y minerales se utilizan para protegerse contra estos los efectos nocivos de la radiación UV, pero

varias moléculas naturales también pueden ofrecer esta protección, incluyendo también un efecto sinérgico o una fotoestabilidad mejorada.

El uso de fotoprotectores activos es muy beneficioso para combatir los efectos nocivos de los rayos UV. Las categorías importantes de fitoconstituyentes beneficiosos incluyen los ácidos fenólicos, los polifenoles de alto peso molecular y flavonoides. Naturalmente, están presentes los ácidos fenólicos que incluyen el ácido hidroxicinámico y el ácido hidroxibenzoico. Los polifenoles de alto peso molecular, también conocidos como taninos, incluyen polímeros condensados de catequinas o epicatequinas y polímeros hidrolizables de ácidos gálicos o elágicos. Muchos flavonoides, como la quercetina, la luteolina y las catequinas, son mejores antioxidantes que el ácido ascórbico, la α -tocoferol y betacaroteno. Se ha demostrado que los biofenoles interfieren no solo con la reacción de propagación en la cadena lipoperoxidativa, sino también con la formación de radicales libres, ya sea quelando el metal de transición o inhibiendo las enzimas involucradas en la reacción de iniciación⁵⁸.

Estos antioxidantes naturales generalmente provienen de una ingesta dietaria rica en vegetales y frutas o de la aplicación tópica en cremas, por ello despiertan interés en el campo fitocosmético.

Barradas *et al.* (2014)⁵⁹ desarrollaron nanoemulsiones que contenían aceite vegetal, aceite de hinojo dulce, para ser aplicadas por vía tópica; los investigadores verificaron que el aceite de hinojo dulce presentaba propiedades antioxidantes, probablemente debido a la presencia de flavonoides y terpenoides que promueven una alta actividad de eliminación de radicales.

En un trabajo desarrollado por Mansur *et al.* (2012)⁶⁰, se estudió el efecto antioxidante de diferentes extractos de plantas del género *Bauhinia*. *B. microstachya* var. *massambabensis* Vaz, Fabaceae, lo que

demostró una mayor actividad antioxidante del extracto de hoja de *Bauhinia* en comparación con el extracto estándar de *Ginkgo biloba* y Trolox® (un análogo soluble en agua de la vitamina E). Los extractos de la planta *Bauhinia* presentan altas cantidades de flavonoides glicosilados, incluidos los derivados de galio, así como galato de metilo y sustancias similares al ácido gálico que se reconocen como potentes antioxidantes, por lo que son una fuente para el estudio de diferentes actividades farmacológicas y no muestran fototoxicidad. Las principales sustancias y sus estructuras moleculares identificadas en el extracto de acetato de etilo de *Bauhinia* fueron los flavonoides kaempferol-3-O-ramnosido y astragalin-2'',6''- di-O-digalato.

Un nuevo concepto en investigación y desarrollo de cosméticos es el uso de los llamados "filtros biológicos", como los potentes antioxidantes, vitaminas y flavonoides, que pueden tener efectos protectores contra la radiación UV y también pueden tener una actividad de filtro biológicamente relevante. Teniendo en cuenta que las vitaminas A (palmitato de retinilo), E (tocoferilo acetato) y C (tetraisopalmitato de ascorbilo) cuando se asocia a los flavonoides podrían tener un efecto sinérgico para mejorar las condiciones en la piel dañada por los rayos UV, parecía de interés desarrollar pre-formulaciones que contengan tales sustancias activas, así como evaluar su eficacia en la piel⁶¹.

El estudio desarrollado por Campos *et al.*⁶², mostró que los bioflavonoides tenían propiedades antioxidantes *in vitro* y también cuando se asociaron con vitaminas, su actividad antioxidante fue más pronunciada. El efecto fotoprotector se evaluó mediante pruebas *in vivo*, para lo cual la piel dorsal de ratones sin pelo se trató con aplicaciones tópicas durante 5 días. Se aplicaron 2 formulaciones, que no contenían la asociación flavonoides y vitaminas (vehículo) y pre-formulaciones que contenían la asociación de flavonoides y vitaminas (Vitamina A, E y C) al 5%. La piel fue irradiada (UVA/UVB) 15 minutos después de la última aplicación. Los resultados mostraron que el tratamiento protegió la piel

del daño UV porque se redujo el número de células por quemadura solar, en comparación con el área tratada el vehículo. Así, la asociación de vitaminas y bioflavonoides añadidos a una pre-formulación dermocosmética mostraron una actividad biológica relevante en términos de fotoprotección, debido a que la asociación de bioflavonoides y vitaminas actuó por diferentes mecanismos, como la antioxidación y la absorción de la radiación UV, con lo que el autor sugiere su uso en productos de antienvjecimiento y fotoprotectores.

En los últimos años, los extractos naturales se han incorporado cada vez más a las formulaciones dermocosméticas, es una tendencia generalizada el agregar valor a los productos, especialmente por el gran atractivo comercial y la mayor aceptación por parte de los consumidores. Además, el desarrollo de formulaciones fotoprotectoras con filtros solares menos sintéticos es uno de los objetivos en la investigación de la fotoprotección. Sin embargo, la seguridad de estas fórmulas debe evaluarse antes de su disponibilidad para los clientes; por lo tanto, el potencial irritante de las formulaciones fotoprotectoras debe evaluarse a través de pruebas *in vitro* e *in vivo* para garantizar la presencia de productos más seguros en el mercado, reduciendo los riesgos para los consumidores²³.

2.8. Factor de protección solar

Indica la capacidad de protección en relación al tiempo de exposición a los rayos UVB hasta la aparición del eritema o enrojecimiento de la piel, dependiendo del fototipo del individuo, valorándose la eficacia de un filtro. Se debe considerar que no guarda relación directa con los efectos provocados por los rayos UVA⁶².

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiales, equipos y reactivos

3.1.1. Materiales

Material botánico: tubérculo de sachá papa morada (*Dioscorea trifida* L.f.)

Cámara de desarrollo cromatográfico.

Cubetas de plástico y cuarzo para espectrofotómetro.

Material de vidrio: tubos de ensayo, frascos viales, pipetas, fioles.

Papel Whatman N°3

Micropipetas de 200 µL y 1000 µL

Tips para micropipetas de 200µL y 1000 µL

Termómetro

3.1.2. Equipos

Balanza analítica METTLER TOLEDO®

Liofilizador BIOBASE®

Licuada BL-75 Oster®

Espectrofotómetro UV Genesys 150. Thermo scientific®.

Cocinilla eléctrica IKA C-MAG M57

Refrigeradora Samsung Modelo ES21HKLMR

Centrífuga SMART R17

Estufa de aire seco HV OVENS

pH-metro digital METTLER TOLEDO®

3.1.3. Reactivos y solventes

Dragendorff, Mayer, Shinoda, Cloruro férrico, Gelatina, Lieberman Bouchardat, Bortranger, Amoniaco, Yodo, n-butanol (Merck®), ácido clorhídrico, ácido acético glacial (Merck®), metanol (Merck®), ,1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH •), Alcohol etílico 96%, agua bidestilada, agua destilada, metanol absoluto (Merck®), metanol al 70%, Trolox® (Sigma Aldrich®), ABTS•⁺ (Sigma Aldrich®), persulfato potásico (Sigma Aldrich®).

3.2. Metodología

Tipo de investigación: Experimental y explicativo.

3.2.1. Obtención y selección de material botánico

La muestra vegetal de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) fue recolectada en la localidad de Nina Rumi, (03°45'S, 73°14'W, entre 84 y 92 metros de altitud), distrito de San Juan Bautista, departamento de Iquitos en el mes de Agosto del 2018. El estudio taxonómico fue realizado según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988) en el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (anexo 1). Se seleccionaron los tubérculos en condiciones óptimas (sin signos de putrefacción).



Figura 4. Material botánico en el lugar de recolección.

3.2.2. Obtención del extracto de sacha papa morada

Se seleccionó los tubérculos de sacha papa morada que se encontraban en condiciones óptimas. Aproximadamente 750 g del tubérculo fueron lavados utilizando abundante agua potable, para

luego ser lavados con agua destilada y fueron pelados para retirar la cáscara, donde se obtuvo 500 g de tubérculo sin cáscara. Se procedió con el fraccionamiento y pulpeado del material, los tubérculos fueron cortados en finas rodajas de aproximadamente 2 mm de espesor y se vaciaron a una licuadora adicionando 1 L de agua destilada hasta obtener una mezcla con pequeñas partículas de pulpa. Con la ayuda de gasa se realizaron 2 filtraciones. La solución se acondicionó en envases de plástico con tapa de 250mL, de forma hermética protegiéndolos de la luz con papel aluminio.

Para realizar la liofilización, la mezcla se colocó previamente durante 12 horas en el congelador a una temperatura de -70°C . Luego se colocó en la liofilizadora llegando al punto mínimo de -40°C por el tiempo de 72 horas hasta que toda el agua fue eliminada⁶³.

Con el fin de separar el almidón de la muestra, se mezcló aproximadamente 40 g del extracto liofilizado con 500 mL de una mezcla de etanol 96% y agua (7:3), y se colocó en tubos para proceder con la centrifugación a una velocidad de 3000 RPM durante 5 minutos. Se separó el sobrenadante y se continuó realizando el mismo procedimiento, es decir, se mezcló el precipitado con la solución hidroalcohólica restante y se volvió a centrifugar, separando una vez más el sobrenadante y descartando el precipitado (almidón). Los sobrenadantes obtenidos después de la centrifugación se colocaron en placas petri y se concentraron en una estufa $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas hasta sequedad, obteniendo el extracto seco (anexo 10), cuyo peso final fue de 4 g, protegiéndose de la luz y conservándose hasta su posterior análisis⁶⁴.

3.2.3. Estudio farmacognóstico

A. Análisis organoléptico

En el análisis organoléptico del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. se consideró evaluar su aspecto, color y olor.

B. Marcha fitoquímica

Los compuestos secundarios del extracto acuoso liofilizado del tubérculo *Dioscorea trifida* L.f. “sacha papa morada”, se detectaron mediante la marcha fitoquímica descrita por Olga Lock, basada en pruebas de coloración y precipitación⁶⁵.

3.2.4. Cromatografía en papel sistema descendente

Se maceró el extracto acuoso liofilizado de *Dioscorea trifida* L.f. “sacha papa morada”, para extraer antocianinas, con cantidades pequeñas de metanol acidificado (0.1% de HCl) y a 25°C.

Se desarrolló un cromatograma preparativo descendente con dos repeticiones en papel Whatman N° 3 de 13 x 42 cm, la muestra se aplicó en banda. Las siembras fueron colocadas en la cámara de desarrollo cromatográfico. El eluyente utilizado fue BAW (n-butanol-ácido acético-agua, proporción de 4:1:5 v/v).^{66,67}

3.2.5. Pre-formulación de la crema dermocosmética

Las emulsiones de aceite en agua (O/W) presentan baja untuosidad, producen un efecto refrescante, secan rápidamente y se pueden lavar fácilmente con agua. Tales ventajas se deben al hecho de que la fase continua de la emulsión es acuosa, y la fase dispersa, aceitosa.

Para la elección de la forma dermocosmética se tomaron algunos criterios como factibilidad de fabricación, compatibilidad con el extracto, aspecto, estabilidad y seguridad³⁹.

Se realizaron ensayos de pre-formulación (crema), a la cual se le incorporó el extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. Se obtuvieron 3 cremas conteniendo el 1%, 3% y 5% del extracto respectivamente. Tal como lo muestra la Tabla 1.

Para el proceso de fabricación de la crema base, en un beaker se pesó las cantidades indicadas en la tabla 1 de agua destilada, glicerina y propilenglicol, se mezcló hasta incorporación total y se calentó hasta 70°-75°C.

En otro beaker se pesó el alcohol cetearílico y cetearéth-20 (contenidos en la presentación de Emulgade® 1000 NI), el cual cumple el papel de cera autoemulsificante no iónico en la pre-formulación. Después se añadió isononil isonanoato (LANOL™ 99) y la vaselina líquida, los cuales actúan como emolientes. Luego se realizó una mezcla y homogenización hasta incorporación completa para proceder a calentar a una temperatura de 70-75 °C.

Fueron agregados los excipientes de ambos beakers en un agitador magnético a 75 °C, la fase oleosa sobre la acuosa con permanente agitación a 1 500 RPM por 10 minutos.

Posteriormente se llevó la mezcla hasta una temperatura de 40°C, para añadir el fenoxietanol y etilhexilglicerina a la crema base. A temperatura menor de 40°C, se realizó la adición del extracto seco a concentraciones de 1, 3 y 5% respectivamente, el cual previamente fue solubilizado en propilenglicol.

Para finalizar se enfrió agitando constantemente durante 5 minutos. El producto se acondicionó en frascos de vidrio neutro transparente, con tapa hermético.

Tabla 1. Pre-formulación de la crema con el extracto acuoso liofilizado de *Dioscorea trifida* L.f.

PRE-FORMULACIÓN CUALI-CUANTITATIVA (%)*				
EXCIPIENTES	F1	F2	F3	F4
1 ETAPA - Fórmula crema base (%)				
Agua destilada	82.4 %	-	-	-
Glicerina	3%	-	-	-
Propilenglicol	1%	-	-	-
Alcohol cetearílico y Cetareth-20 (Emulgade 1000 NI)	7%	-	-	-
Vaselina Líquida	4%	-	-	-
Isononil Isononanoato (Lanol 99)	2%	-	-	-
Fenoxietanol y etilhexilglicerina (Saliguard EHGP)	0.6%	-	-	-
2 ETAPA (g)				
Crema base F1	-	24.25	22.75	21.25
Extracto seco de Dioscorea Trifida “Sacha papa Morada”	-	0.25	0.75	1.25
Propilenglicol	-	0.5	1.5	2.5
TOTAL	-	25	25	25

*Detalle de la pre-formulación:

Crema Base	F1	Crema base
Extracto de <i>Dioscorea trifida</i> L.f. “sacha papa morada”	F2	Crema base + extracto al 1%
	F3	Crema base + extracto al 3%
	F4	Crema base + extracto al 5%

3.2.6. Estabilidad preliminar

Prueba de Centrifugación

Antes de iniciar los estudios de estabilidad, se recomienda someter al producto a la prueba de centrifugación. Las cremas elaboradas fueron sometidas a 3 000 rpm durante 30 minutos a condiciones ambientales para verificar si se mantiene estable la formulación y cualquier señal de inestabilidad indica la necesidad de reformulación. Si es aprobado en esta prueba, el producto puede ser sometido a las pruebas de estabilidad (anexo 11)⁶⁸.

3.2.7. Análisis organoléptico y fisicoquímico de la pre-formulación

Se realizó el análisis organoléptico y fisicoquímico de la pre-formulación descritas en la tabla 1 tomando en cuenta el aspecto, color, olor, pH y viscosidad.

3.2.8. Determinación de actividad antioxidante *in vitro*

A. Determinación de la actividad antioxidante utilizando el método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•])

La actividad antioxidante del extracto y las cremas conteniendo el extracto se determinaron por el método DPPH[•] según lo desarrollado por Brand-Williams *et al.* (1995)⁶⁹.

Fundamento del método:

Consiste en la reducción del radical DPPH[•] libre y estable, que posee un electrón desapareado; en presencia de una sustancia antioxidante el compuesto reacciona y el reactivo sufre la decoloración de violeta oscuro hacia el color amarillo pálido. La reducción de la solución DPPH[•] es seguida por la pérdida de la intensidad de color y la disminución de su espectro de absorción a 517 nm.

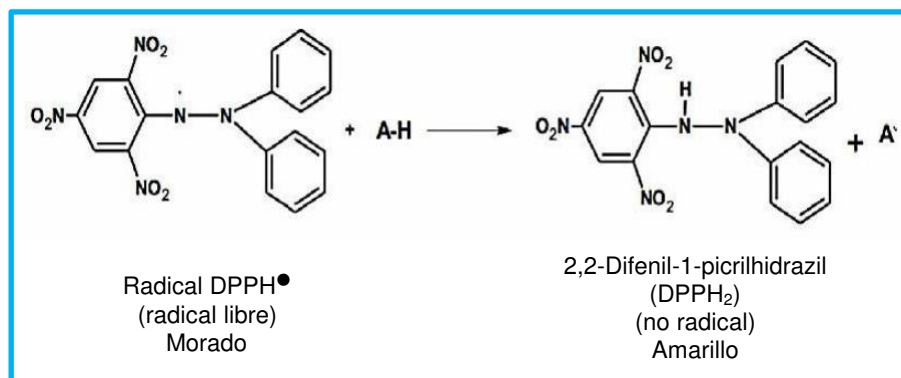


Figura 5. Ecuación química de la reacción del radical libre DPPH[•] y un agente antioxidante⁷⁰.

Procedimiento:

Preparación de la solución stock: en una fiola de 50 mL se colocó 20 mg del reactivo DPPH[•], se agregó metanol absoluto hasta el enrase, la solución se guardó a 4°C protegido de la luz.

Se realizó la calibración del espectrofotómetro a partir del blanco de muestra (tabla 2). La solución de trabajo DPPH se preparó a partir de la solución stock diluyéndola en metanol absoluto hasta obtener una absorbancia a 0.7 ± 0.01 en un espectrofotómetro ultravioleta Genesys® a 517 nm.

Se realizaron diluciones del extracto de *Dioscorea trifida* L.f.: 25, 50 y 100 µg/mL, haciendo uso de una mezcla de agua y etanol 96% (3:7) como solvente.

Para la pre-formulación que contiene el extracto al 1, 3 y 5% se realizaron diluciones y el solvente de la muestra fue una mezcla de agua y etanol en una proporción de 1:9.

Se calibró el espectrofotómetro con un blanco y se procedió a leer las muestras a las concentraciones descritas. En un tubo de ensayo se colocó 400 µL de la muestra problema y 800 µL

de la solución de DPPH•. Luego se agitaron las muestras y se dejaron reaccionar por 30 minutos en oscuridad y a temperatura ambiente, culminado el tiempo se leyó la absorbancia a 517 nm. El procedimiento se realizó por triplicado.

El mismo procedimiento se realizó para el Trolox® que se usó como sustancia patrón a las siguientes concentraciones: 0.33, 0.66, 1.66, 2.66 y 3.33 µL/mL.

Tabla 2. Volúmenes de trabajo para el ensayo DPPH•

	Blanco de muestra	Patrón de referencia	Muestra o estándar
Metanol	800 µL	400 µL	-
Muestra	400 µL	-	400 µL
DPPH	-	800 µL	800 µL

Valores muy bajos de absorbancia de la mezcla reaccionante es indicativo de una alta capacidad secuestrante de radicales libre (CSRL). El porcentaje de captación de radicales libres (DPPH•) fue determinado mediante la fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(\text{Abs. DPPH} - \text{Abs. muestra})}{(\text{Abs. DPPH})} \times 100$$

Para la determinación del IC50 se utilizó la gráfica del porcentaje de inhibición versus la concentración.

Se determinó el valor TEAC según la siguiente fórmula:

$$\text{TEAC} = \frac{\text{IC 50 Trolox } \mu\text{g/mL}}{\text{IC 50 DPPH muestra mg/mL}}$$

B. Determinación de la actividad antioxidante por el método de 2,2-azinobis-(3- etilbenzotiazolín)-6- sulfónico (ABTS^{•+})

La actividad antioxidante del extracto y las pre-formulaciones conteniendo el extracto se determinaron por el método ABTS^{•+} según lo descrito por RE *et al*⁷¹ y Kuskoski *et al*⁷².

Fundamento del método:

El ABTS^{•+} es un radical cromóforo de color verde azulado cuyo espectro de absorción es 734 nm y se forma por la oxidación del ABTS^{•+} (7mM) con persulfato de potasio (2,45 mM). La reacción del compuesto es en presencia de radicales libres y sufre la decoloración a amarillo tenue. A través de la disminución de la lectura espectrofotométrica de la absorbancia a 734 nm, se mide la reducción del ABTS^{•+}. El IC50 muestra la actividad antioxidante⁷¹.

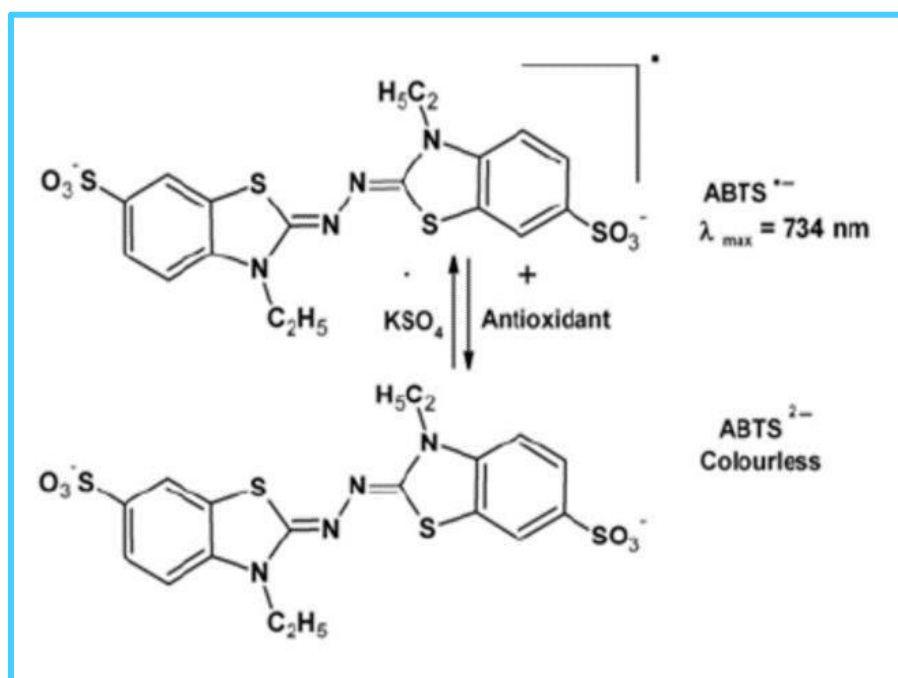


Figura 6. Ecuación química de la reacción de ABTS^{•+} con un agente antioxidante⁷¹.

Procedimiento:

Preparación de la solución stock: al reactivo de ABTS^{•+} 7 mM se le añadió K₂S₂O₈ (2,45mM) para su activación, y se incubó a 25°C y protegido de la luz durante 16 horas. Luego de la formación del radical activo ABTS^{•+} (solución stock) se realizó una dilución con agua bidestilada para ajustar la absorbancia a 0.7 ± 0.02 a 734 nm, obteniendo así la solución trabajo ABTS^{•+}.

Se realizaron diluciones del extracto de *Dioscorea trifida* L.f.: 25, 50 y 100 µg/mL, haciendo uso de una mezcla de etanol 96% y agua (7:3) como solvente.

Para la pre-formulación conteniendo el extracto al 1, 3 y 5% se realizaron diluciones, el solvente de la muestra fue una mezcla de agua y etanol en una proporción de 1:9.

El espectrofotómetro se calibró con un blanco de muestra, Tabla 3. A los tubos de reacción se adicionó 20 µL de la muestra y 980 µL de la solución de ABTS^{•+}, se agitó y dejó reaccionar por 7 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad, culminado el tiempo se leyó la absorbancia a 734 nm. Para el control de ABTS^{•+} se realizó el mismo procedimiento solo que se reemplaza la muestra problema por su solvente. El procedimiento se realizó por triplicado.

Para la curva de calibración se utilizaron concentraciones 0, 1, 2 y 5 µg/mL de Trolox® como estándar.

Tabla 3. Volúmenes de trabajo para el ensayo ABTS^{•+}

	Blanco de muestra	Patrón de referencia	Muestra o estándar
Agua Bidestilada	980 µL	20 µL	-
Muestra	20 µL	-	20 µL
DPPH	-	980 µL	980 µL

Con los valores de absorbancia obtenidas se determinó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(\text{Abs. ABTS} - \text{Abs. muestra})}{(\text{Abs. ABTS})} \times 100$$

A partir de la gráfica del porcentaje de inhibición versus la concentración se determinó el IC₅₀ que indica la concentración requerida para neutralizar el 50% de los radicales libres del ABTS^{•+}. Valores bajos de IC₅₀ indican alta actividad de eliminación de radicales. Los resultados también se expresan como valores TEAC (*Trolox® Equivalent Antioxidant Capacity*):

$$\text{TEAC} = \frac{\text{IC } 50 \text{ Trolox } \mu\text{g/mL}}{\text{IC } 50 \text{ ABTS muestra mg/mL}}$$

3.2.9. Determinación de la actividad fotoprotectora (FPS) *in vitro* frente a radiación UVB

El factor de Protección Solar (FPS) de la pre-formulación elaborada se determinó siguiendo la metodología *in vitro* descrita por Mansur *et al.* (1986)⁷³. El FPS se evaluó en el rango de 290 a 320 nm (rango UVB), mas no en el rango UVA ni UVC.

Para obtener las diluciones a una concentración de 0.2 mg/mL, se pesó 1 g de las cremas y se transfirió a un matraz aforado de 100 mL, se adicionó 50 mL de etanol, agitándose por 5 minutos, y luego se diluyó a volumen con etanol, se homogeneizó y filtró descartándose los primeros 10 mL. Se tomó 5 mL del filtrado, se trasvasó a un matraz aforado de 50 mL y se diluyó a volumen con etanol. Finalmente, 5 mL de la última dilución fue transferido a un matraz 25 mL y se aforó con etanol.

En el rango de 290 a 320 nm se determinaron las absorbancias de las soluciones, con intervalos de 5 nm usando una cubeta de cuarzo de 1 cm. Este procedimiento fue realizado por triplicado y el FPS fue calculado según:

$$\text{FPS} = \text{FC} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Donde:

FPS = Factor de Protección Solar

FC = 10 (factor de corrección)

EE (λ) = Efecto eritemogénico de la radiación de λ

I (λ) = Intensidad del sol en la longitud de onda λ

Abs (λ) = Absorbancia de la solución en la longitud de onda λ

Tabla 4. Correlación entre el efecto eritemogénico (EE) y la intensidad de radiación (I) conforme la longitud de onda (λ)⁷³.

Longitud de onda(λ) (nm)	EE(λ) x I (λ)
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0180
TOTAL	1.000

3.2.10. Análisis estadístico

Los resultados son expresados en promedios para todas las mediciones obtenidas. Se realizó mediante el análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey, con un nivel de confianza de 95 % ($p < 0.05$) empleando el programa SPSS (*Statistical Package for Socials Sciences*) versión 23 en español. (Anexo 2-8).

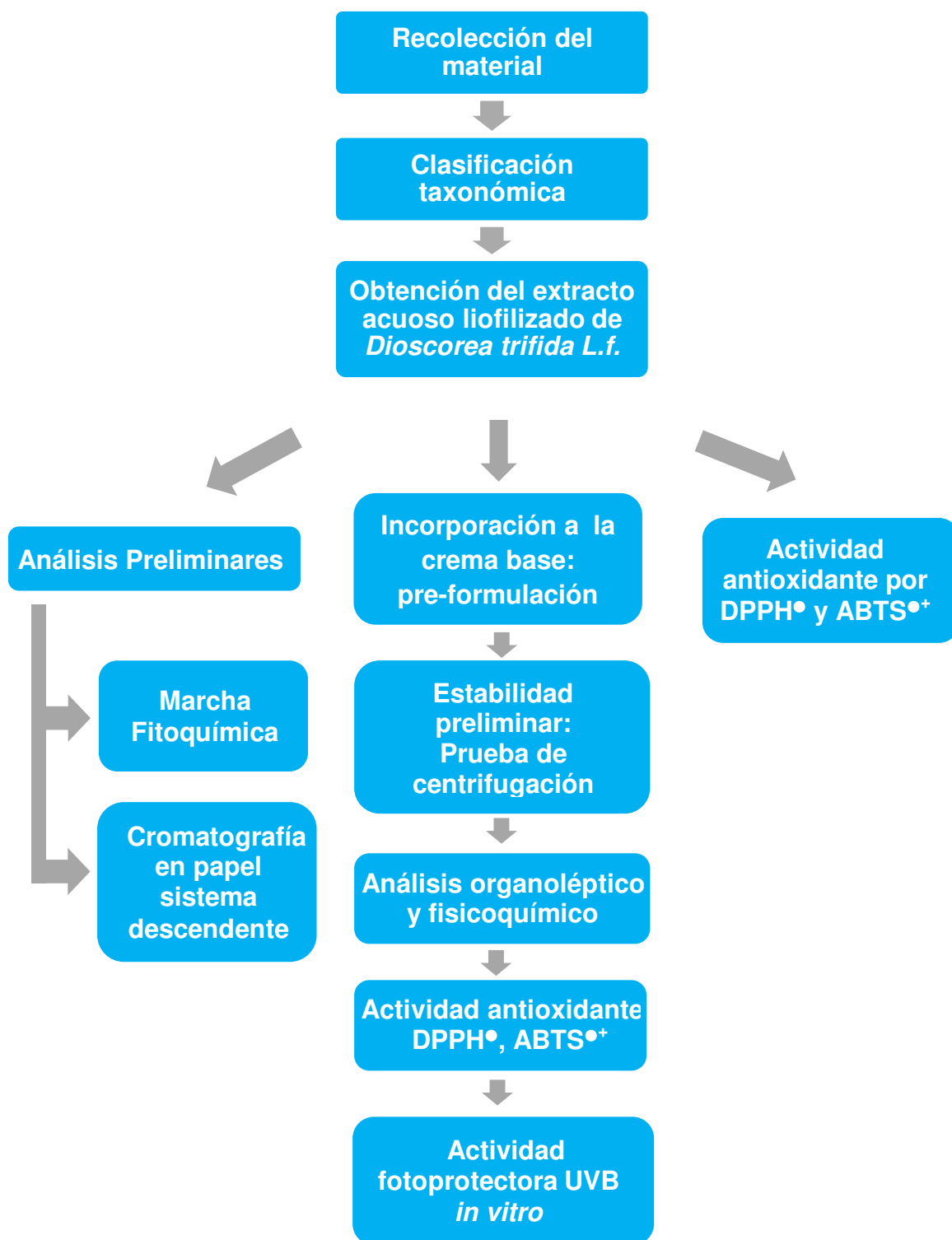


Figura 7. Esquematización de la metodología.

IV. RESULTADOS

4.1. Estudio farmacognóstico

4.1.1. Análisis organoléptico

Tabla 5. Características organolépticas del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (anexo 10).

Características	Especificación
Aspecto	Sólido
Color	Morado oscuro
Olor	Característico

4.1.2. Marcha fitoquímica

Para determinar los metabolitos secundarios presentes en la muestra, se realizó en primer lugar, la marcha fitoquímica que tuvo los siguientes resultados.

Tabla 6. Marcha fitoquímica del extracto acuoso liofilizado de *Dioscorea trifida* L.f.

METABOLITO SECUNDARIO	REACCIÓN	OBSERVACIÓN	RESULTADOS
Alcaloides	Dragendorff	Precipitado rojo	-
	Mayer	Precipitado blanco	-
Flavonoides	Shinoda	Coloración roja	+++
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	Coloración verde o azul	++
Azúcares	Molish (α- Naftol)	Coloración violeta	++
Taninos	Gelatina	Turbidez	-
Saponinas	Índice de espuma	1cm persistente	++
Triterpenos	Liebermann-Buchard	Coloración rojo a púrpura	+
Esteroides		Coloración azul-verdoso	-
Antraquinonas	Bortranger	Amarillo-	++

		Anaranjado	
Antocianinas	HCl (1N)	Coloración roja	+++

No se evidencia presencia (-); Presencia de trazas (+);

Presencia moderada (++); Presencia abundante (+++)

4.2. Cromatografía en papel sistema descendente

En el cromatograma (figura 8) se identificó 1 banda coloreada la cual fue eluída con HCl 0,01% en metanol y leída al espectrofotómetro UV visible en un barrido desde 300 a 600 nm (figura 9).

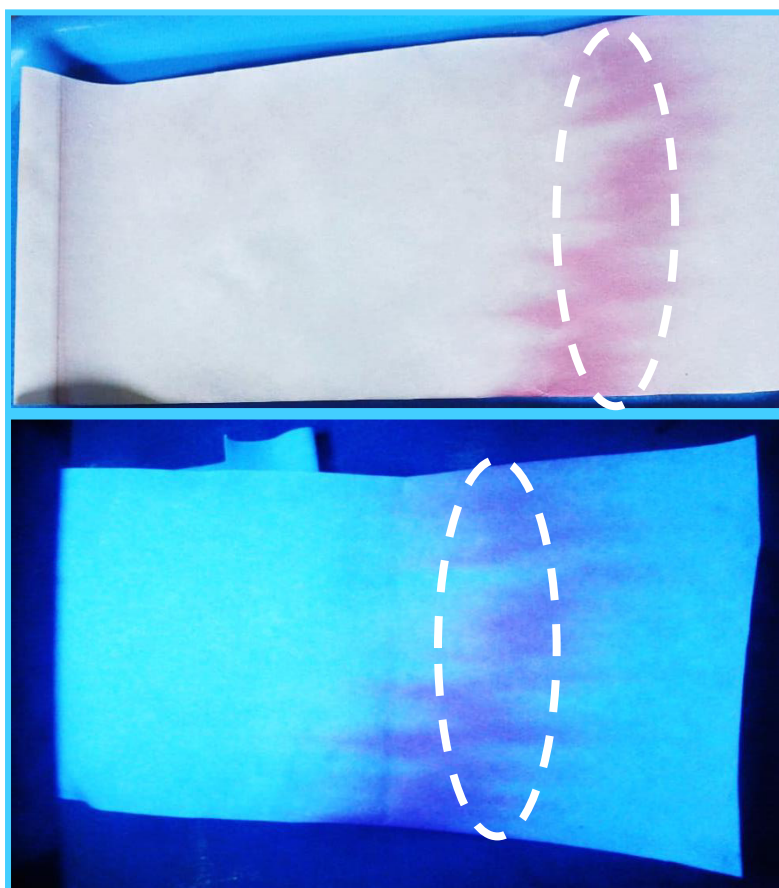


Figura 8. Cromatograma del extracto de *Dioscorea trifida* L.f. en papel Whatman N°3

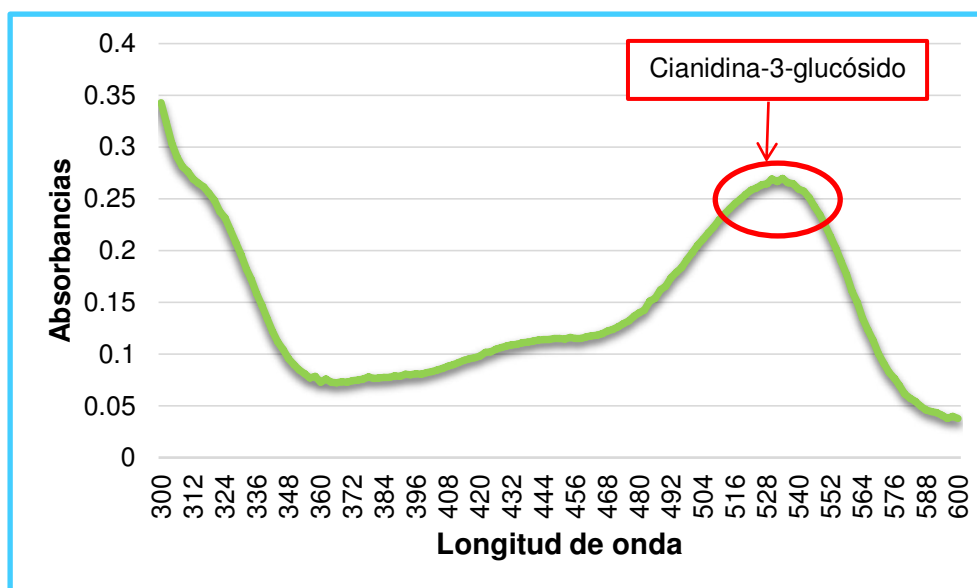


Figura 9. Gráfico de valor espectral UV de las bandas eluidas.

Tabla 7. Valores de absorción UV visible de una banda de referencia de los diferentes tipos de flavonoides, especialmente antocianinas⁷¹.

Banda I (nm)	Tipo de flavonoide
310-350	Flavonas
330-360	Flavonoles (3-OH substituido)
350-385	Flavonoles (3-OH libre)
310-330	Isoflavonas
300-330	Isoflavonas, dihidroflavonoles
340-390	Chalconas
380-430	Auronas
465-560	Antocianidinas, antocianinas

Tabla 8. Identificación de posible antocianina a partir de los valores espectrales obtenidos

	λ máx	Rf	Antocianina
BANDA 1	(536 nm) 0.2656	0.65	Cianidina-3-glucósido

4.3. Características organolépticas y fisicoquímicas de la pre-formulación

Se analizó el aspecto, color, olor, pH y viscosidad de la pre-formulación (tabla 9). El aspecto fue una crema homogénea, el color de la pre-formulación, con diferentes concentraciones del extracto, fue de un color lila a morado. La viscosidad fue medida con spindle 6 a 20 rpm por 1 minuto a 22.4° C; y su resultado fue de 16240-16560 cP. El pH de las cremas se encontró alrededor de 6, el cual es favorable para pre-formulaciones tópicas de acuerdo al pH de la piel.

Tabla 9. Características organolépticas y fisicoquímicas de la pre-formulación elaborada con el extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f.

Características	Crema Base	1%	3%	5%
Aspecto	Crema homogénea	Crema homogénea	Crema homogénea	Crema homogénea
Color	Blanco	Lila	Violeta	Morado
Olor	Característico	Característico	Característico	Característico
pH	5.70	6.06	5.94	5.85
Viscosidad	16240 cP	16560 cP	16550 cP	16550 cP

4.4. Determinación de actividad antioxidante *in vitro*

4.4.1. Actividad Antioxidante por ensayo DPPH•

En las tablas siguientes se muestra los resultados de la actividad antioxidante por el método de DPPH• del extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f.

Tabla 10. Actividad antioxidante del Trolox® utilizando el método DPPH•

Concentración del Trolox® (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 517 nm	%inhibición del radical DPPH•	IC 50 (µg/mL)
0	0.5253	0	2.8679
0.33	0.4856	7.5507	
0.66	0.4470	14.9111	
1.66	0.3790	27.8553	
2.66	0.2743	47.7791	
3.33	0.2240	57.3604	

Tabla 11. Actividad antioxidante del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. utilizando el método DPPH•

Concentración del extracto (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 517 nm	% Inhibición del radical DPPH•	IC 50 (µg/mL)
0	0.5239	0	64.3518
25	0.4020	23.2775	
50	0.3046	41.8538	
100	0.1340	74.4194	

Los datos expresados del promedio de absorbancias es resultado del ensayo por triplicado de las concentraciones. Para determinar la existencia de diferencia significativa entre los resultados se usó el método de Tukey con nivel de confianza al 95% ($p < 0.05$) (anexo 2).

El IC₅₀ fue 64.3518 µg/mL para el extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. y del Trolox® 2.8679 µg/mL. El valor TEAC

fue 44.5672 mg Trolox®/g muestra para el extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (figura 10 y 11).

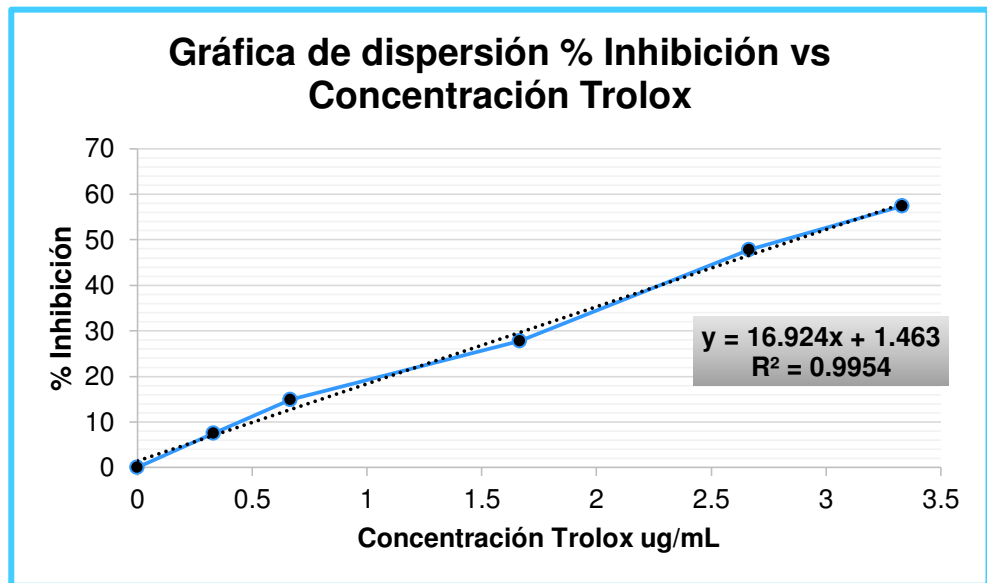


Figura 10. Gráfica de dispersión entre concentraciones del estándar Trolox® versus % de inhibición del radical DPPH•

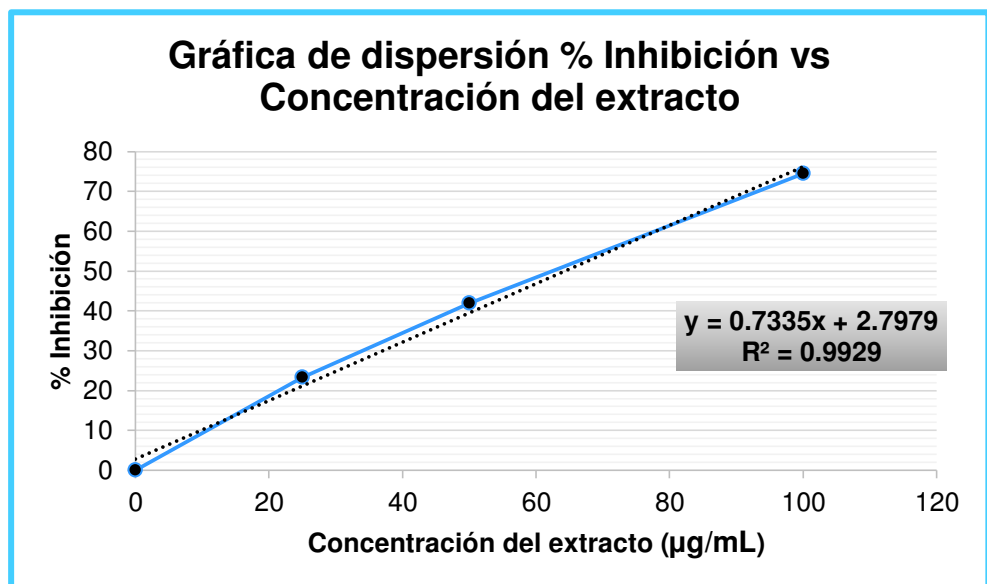


Figura 11. Gráfica de dispersión entre concentraciones del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. versus % de inhibición del radical DPPH•

En las tablas siguientes se muestran los resultados del ensayo de DPPH[•] realizado en la pre-formulación dermocosmética a diferentes concentraciones de extracto (F1, F2, F3 y F4), detalladas en la tabla 1.

Tabla 12. Actividad antioxidante de la crema base (F1) utilizando el método DPPH[•]

Concentración de la crema base (mg/mL)	Promedio de las absorbancias a 517 nm	% Inhibición del radical DPPH [•]	IC 50 (mg/mL)
0	0.4800	0	11.1290
0.83	0.4607	4.0138	
1.66	0.4411	8.0972	
3.33	0.4114	14.2847	
6.67	0.5436	34.777	
13.4	0.4664	57.841	

Los datos expresados del promedio de las absorbancias es resultado del ensayo por triplicado de las concentraciones. El IC₅₀ fue 11.1290 mg/mL para la crema base y el valor TEAC fue 0.2576 mg Trolox®/g muestra para la crema base (figura 12).

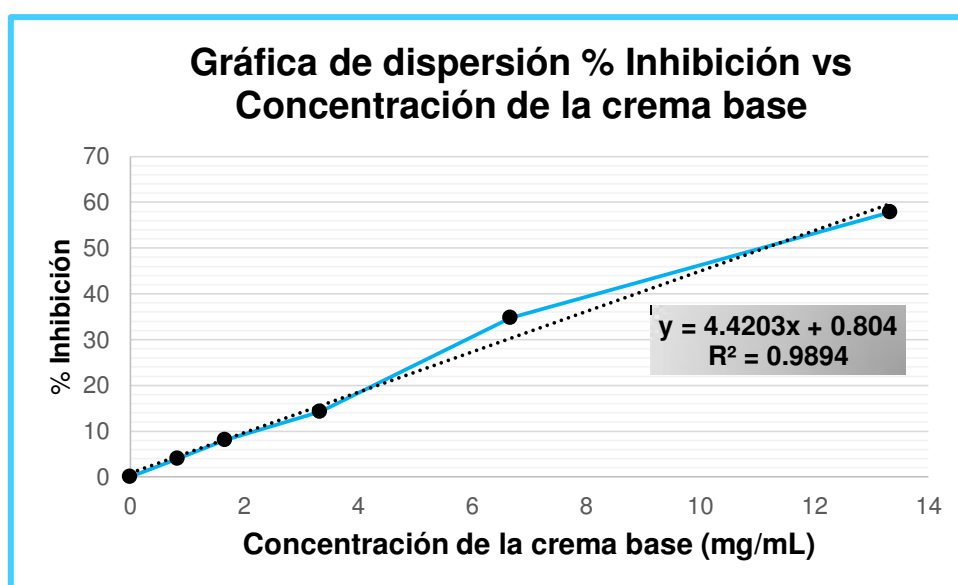


Figura 12. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema base versus % de inhibición del radical DPPH[•]

Tabla 13. Actividad antioxidante de la crema al 1% (F2) utilizando el método DPPH•

Concentración de la crema al 1% (mg/mL)	Promedio de las absorbancias a 517 nm	% Inhibición del radical DPPH•	IC 50 (mg/mL)
0	0.4867	0	3.7918
0.83	0.4198	13.7319	
1.66	0.3593	26.1762	
3.33	0.2677	44.9832	
6.66	0.0744	84.7133	

Los datos expresados del promedio de absorbancias es resultado del ensayo por triplicado de las concentraciones. Para determinar la existencia de diferencia significativa entre los resultados se usó el método de Tukey con nivel de confianza al 95% ($p < 0.05$) (anexo 3).

El IC₅₀ fue 3.7918 mg/mL para la crema conteniendo 1% del extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. y el valor TEAC fue 0.7563 mg Trolox®/g muestra para la crema al 1% (figura 13).

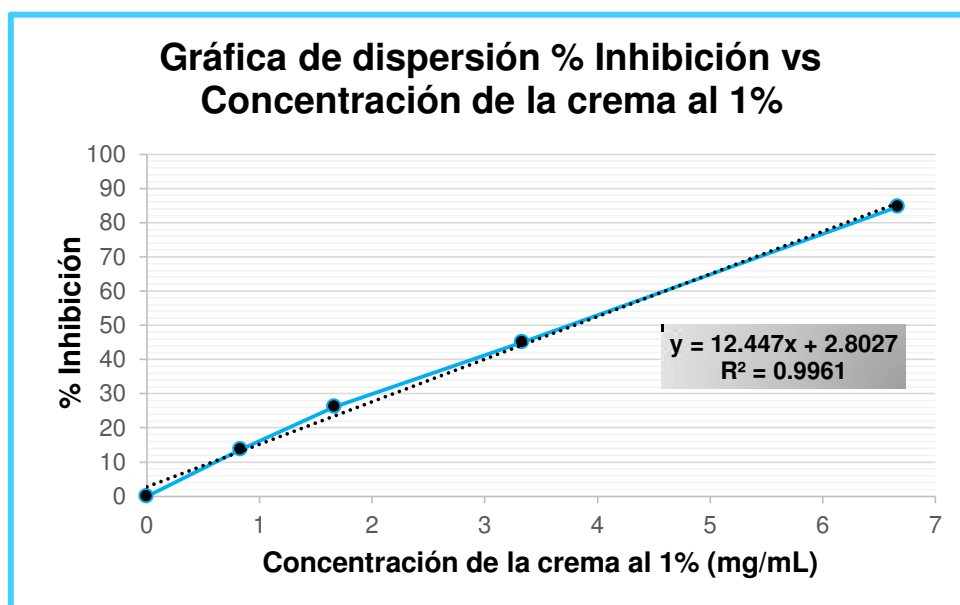


Figura 13. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 1% versus % de inhibición del radical DPPH•

Tabla 14. Actividad antioxidante de la crema al 3% (F3) utilizando el método DPPH•

Concentración de la crema al 3% (mg/mL)	Promedio de las absorbancias a 517 nm	% Inhibición del radical DPPH•	IC 50 (mg/mL)
0	0.4886	0	1.9525
0.83	0.3637	25.5661	
1.66	0.2645	45.8663	
3.33	0.0921	81.1527	

Los datos expresados del promedio de absorbancias es resultado del ensayo por triplicado de las concentraciones. Para determinar la existencia de diferencia significativa entre los resultados se usó el método de Tukey con nivel de confianza al 95% ($p < 0.05$) (anexo 4).

El IC₅₀ fue 1.9525 mg/mL para la crema conteniendo 3% del extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. y el valor TEAC fue 1.4688 mg Trolox®/g muestra para la crema al 3% (figura 14).

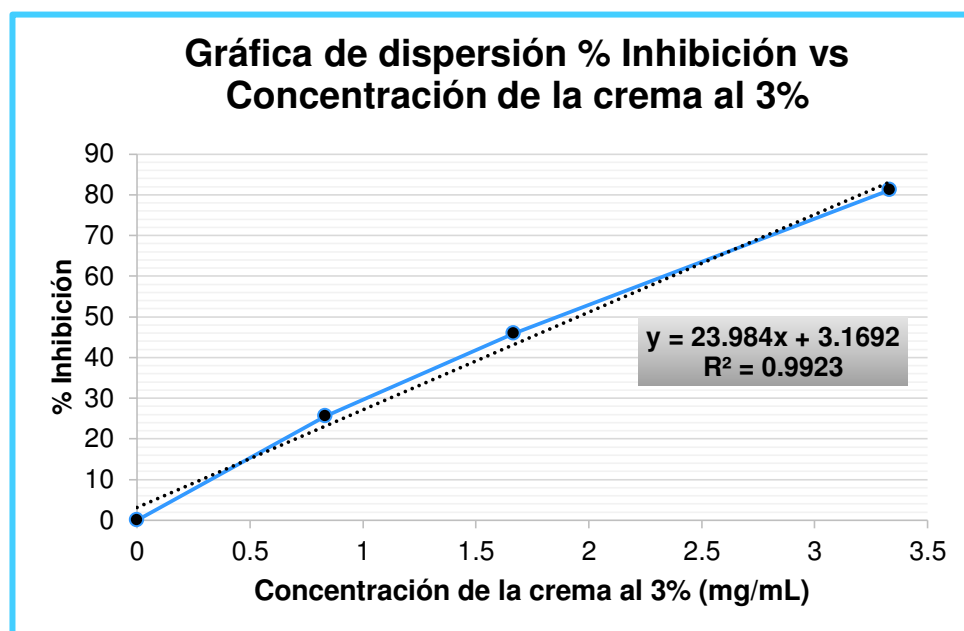


Figura 14. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 3% versus % de inhibición del radical DPPH•

Tabla 15. Actividad antioxidante de la crema al 5% (F4) utilizando el método DPPH•

Concentración de la crema al 5% (mg/mL)	Promedio de las absorbancias a 517 nm	% Inhibición del radical DPPH•	IC 50 (mg/mL)
0	0.4842	0	1.5225
0.83	0.3500	27.7070	
1.66	0.2130	55.9991	
2.50	0.0927	80.8563	

Los datos expresados del promedio de absorbancias es resultado del ensayo por triplicado de las concentraciones. Para determinar la existencia de diferencia significativa entre los resultados se usó el método de Tukey con nivel de confianza al 95% ($p < 0.05$) (anexo 5).

El IC₅₀ fue 1.5225 mg/mL para la crema conteniendo 5% del extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. y el valor TEAC fue 1.8836 mg Trolox®/g muestra para la crema al 5% (figura 15).

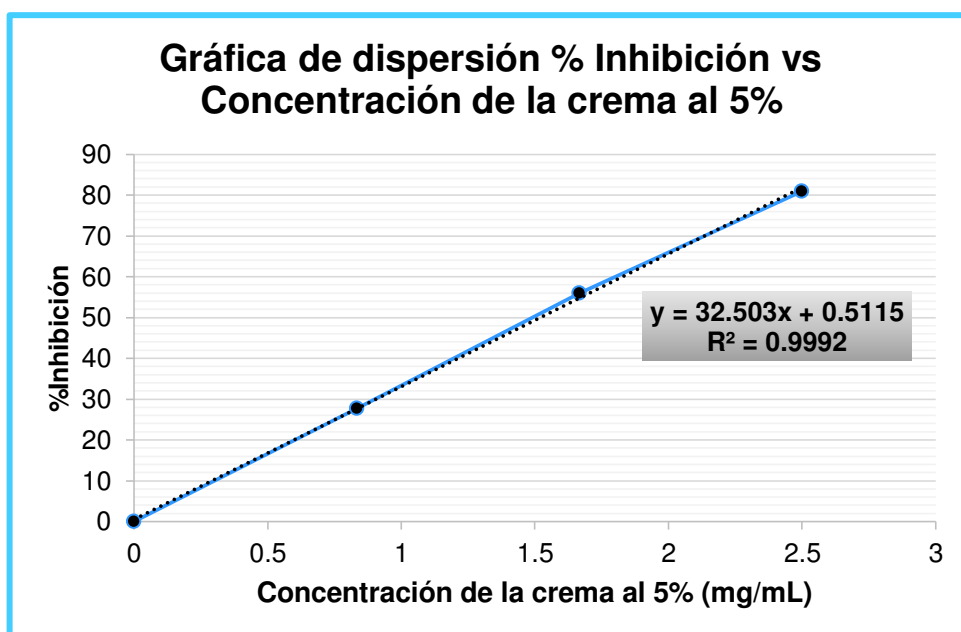


Figura 15. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 5% versus % de inhibición del radical DPPH•

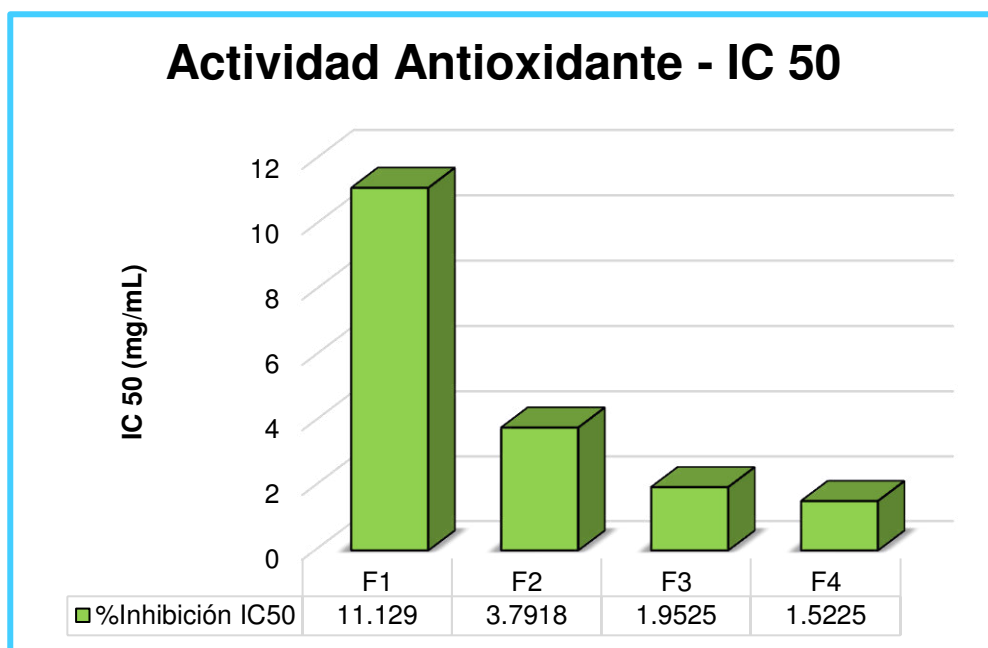


Figura 16. Comparación del IC 50 de las pre-formulaciones F1, F2, F3 y F4 por el método del radical DPPH*

Donde:

Crema Base	F1	Crema base
Extracto de <i>Dioscorea trifida</i> L.f. "sacha papa morada"	F2	Crema base + extracto al 1%
	F3	Crema base + extracto al 3%
	F4	Crema base + extracto al 5%

La figura 16 presenta los valores obtenidos de IC50 comparandolos para cada pre-formulación. Se observa una disminución del IC50 de todas las pre-formulaciones con respecto a F1, lo que demuestra la actividad antioxidante del extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. contenido en cada pre-formulación. A menor IC50 mayor será la actividad antioxidante, ya que menor será la cantidad de la muestra necesaria para inhibir el 50% del radical libre DPPH*.

4.4.2. Actividad Antioxidante por ensayo ABTS^{•+}

En las tabla se muestra los resultados de la actividad antioxidante por el método de ABTS^{•+} del extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f.

Tabla 16. Actividad antioxidante del Trolox® utilizando el método ABTS^{•+}

Concentración del Trolox® (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 734 nm	% Inhibición del radical ABTS ^{•+}	IC 50 (µg/mL)
0	0.6296	0	2.8368
1	0.5495	12.7210	
2	0.4407	30	
5	0.1086	82.7421	

Tabla 17. Actividad antioxidante del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. utilizando el método ABTS^{•+}

Concentración del extracto (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 734 nm	% Inhibición del radical ABTS ^{•+}	IC 50 (µg/mL)
0	0.6909	0	137.7749
25	0.6189	10.4255	
50	0.5607	18.8489	
100	0.4406	36.2215	
160	0.2908	57.9120	

Los datos expresados del promedio de absorbancias es resultado del ensayo por triplicado de las concentraciones. Para determinar la existencia de diferencia significativa entre los resultados se usó el método de Tukey con nivel de confianza al 95% ($p < 0.05$) (anexo 6).

El IC₅₀ fue 137.7749 µg/mL para el extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. y del Trolox® 2.8368 µg/mL. El valor TEAC fue 20.5901 mg Trolox®/g muestra para el extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (figura 17 y 18).

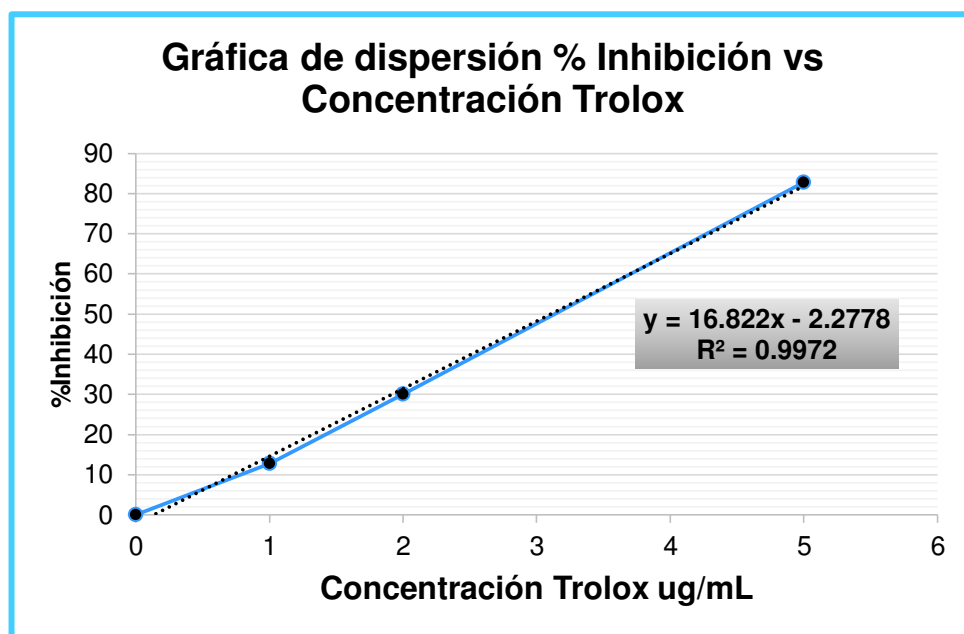


Figura 17. Gráfica de dispersión entre concentraciones del estándar Trolox® versus % de inhibición del radical $ABTS^{\bullet+}$

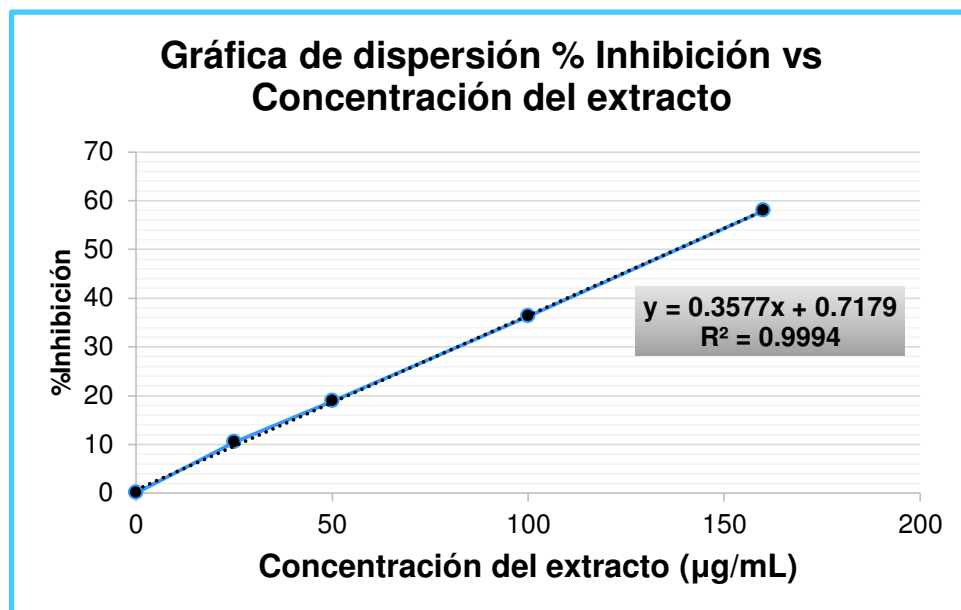


Figura 18. Gráfica de dispersión entre concentraciones del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. versus % de inhibición del radical $ABTS^{\bullet+}$

En las tablas siguientes se muestran los resultados del ensayo de $ABTS^{\bullet+}$ realizado en la pre-formulación dermocosmética (F1, F2,

F3 y F4) con diferentes concentraciones del extracto, detalladas en la tabla 18.

Tabla 18. Actividad antioxidante de la crema base (F1) utilizando el método ABTS^{•+}

Concentración de la crema base (mg/mL)	Promedio de las absorbancias a 734 nm	% Inhibición del radical ABTS ^{•+}
0	0.6905	0
0.2	0.6872	1.0984
0.4	0.6819	1.8659
0.8	0.6698	3.6072
1.7	0.6603	4.5857

Los datos expresados del promedio de las absorbancias es resultado del ensayo por triplicado de las concentraciones.

Los resultados obtenidos no ofrecen datos para expresar la actividad antioxidante como IC50 para la crema base.

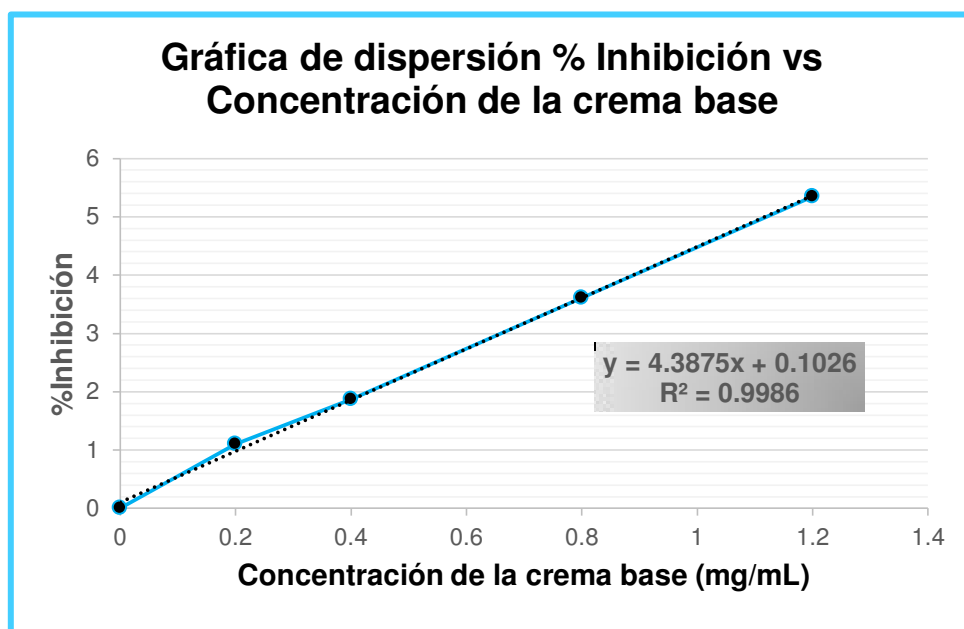


Figura 19. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema base versus % de inhibición del radical ABTS^{•+}.

Tabla 19. Actividad antioxidante de la crema al 1% (F2) utilizando el método ABTS^{•+}

Concentración de la crema al 1% (mg/mL)	Promedio de las absorbancias a 714 nm	% Inhibición del radical ABTS ^{•+}
0	0.6949	0
0.1	0.6873	1.0888
0.2	0.6809	2.0098
0.4	0.6696	3.6312
0.8	0.6513	6.2742

Los datos expresados del promedio de absorbancias es resultado del ensayo por triplicado de las concentraciones. No existe diferencia significativa entre los resultados, usando el método de Tukey con un nivel de confianza al 95% ($p < 0.05$) (anexo 7).

Los resultados obtenidos no ofrecen datos para expresar la actividad antioxidante como IC₅₀ para la crema conteniendo 1% del extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f.

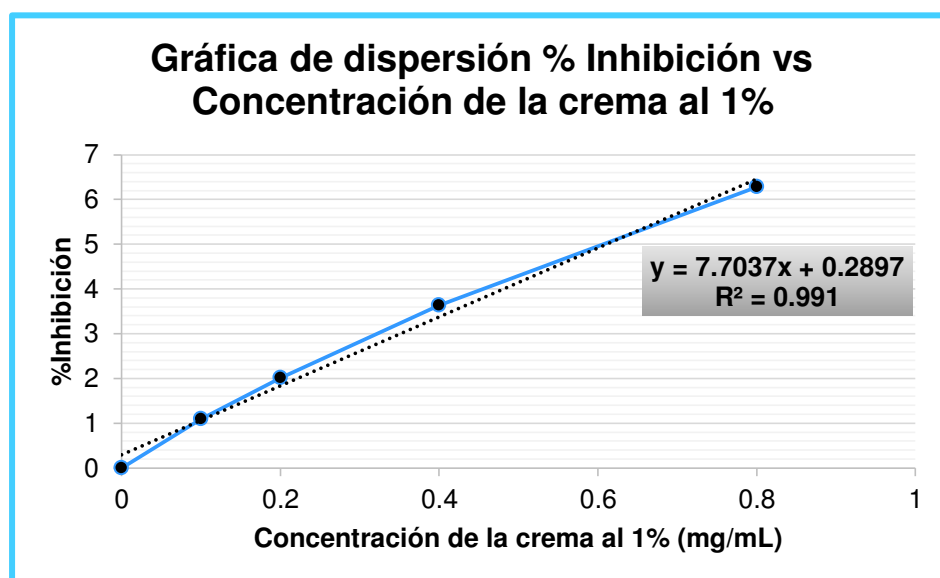


Figura 20. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 1% versus % de inhibición del radical ABTS^{•+}

Tabla 20. Actividad antioxidante de la crema al 3% (F3) utilizando el método ABTS^{•+}

Concentración de la crema al 3% (mg/mL)	Promedio de las absorbancias a 714 nm	% Inhibición del radical ABTS ^{•+}
0	0.6788	0
0.1	0.6818	1.8717
0.2	0.6608	4.9023
0.4	0.6376	8.2361
0.8	0.5902	15.0669

Los datos expresados del promedio de absorbancias es resultado del ensayo por triplicado de las concentraciones. No existe diferencia significativa entre los resultados, usando el método de Tukey con un nivel de confianza al 95% ($p < 0.05$) (anexo 8).

Los resultados obtenidos no ofrecen datos para expresar la actividad antioxidante como IC₅₀ para la crema conteniendo 3% del extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f.

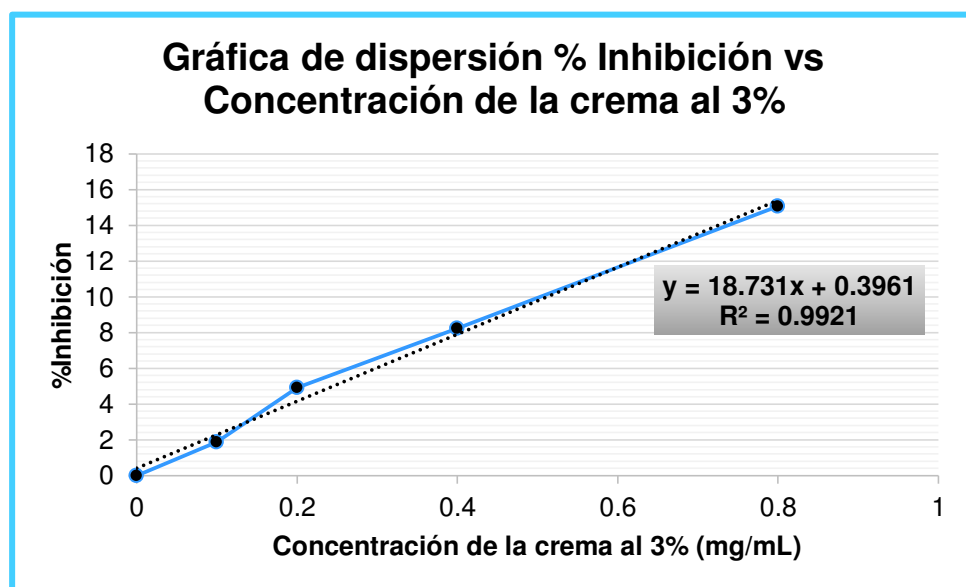


Figura 21. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 3% versus % de inhibición del radical ABTS^{•+}

Tabla 21. Actividad antioxidante de la crema al 5% (F4) utilizando el método ABTS^{•+}.

Concentración de la crema al 5% (mg/mL)	Promedio de las absorbancias a 714 nm	% Inhibición del radical ABTS ^{•+}	IC 50 (mg/mL)
0	0.6687	0	1.0271
0.1	0.6553	5.6938	
0.2	0.6431	7.4639	
0.4	0.5516	20.6168	
0.8	0.4028	42.0252	
1.2	0.3031	56.3774	

Los datos expresados del promedio de absorbancias es resultado del ensayo por triplicado de las concentraciones. Para determinar la existencia de diferencia significativa entre los resultados se usó el método de Tukey con nivel de confianza al 95% ($p < 0.05$) (anexo 9).

El IC₅₀ fue 1.0271 mg/mL para la crema conteniendo 5% del extracto del tubérculo *Dioscorea trifida* L.f. y el valor TEAC fue 2.7619 mg Trolox®/g muestra para la crema al 5% (figura 22).

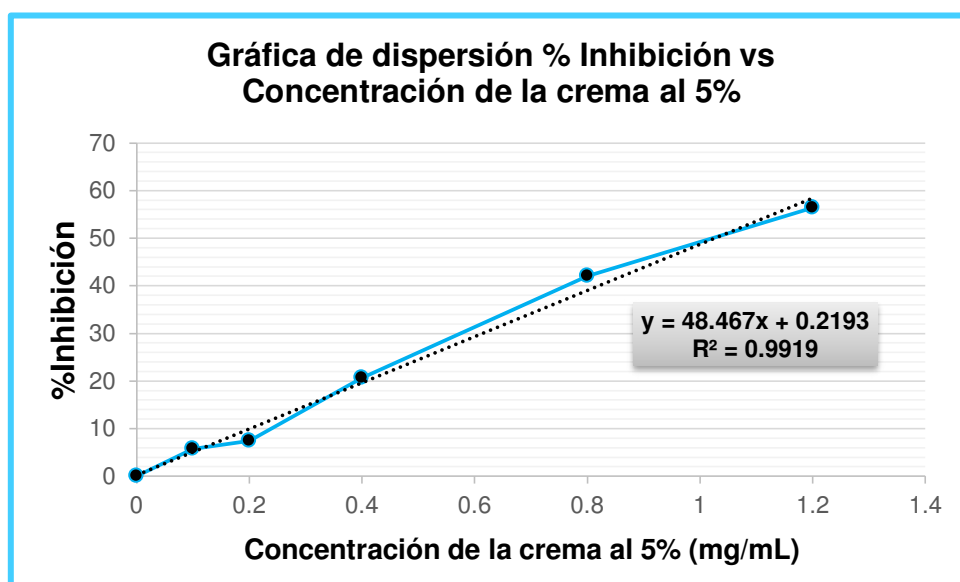


Figura 22. Gráfica de dispersión entre concentraciones de la crema al 5% versus % de inhibición del radical ABTS^{•+}.

Tabla 22. Valores de IC50 para los métodos de DPPH• y ABTS•+ de la pre-formulación que contiene 1, 3 y 5% del extracto.

	VALORES DE IC50	
	DPPH• (mg/mL)	ABTS•+ (mg/mL)
F2	3.7918	-
F3	1.9525	-
F4	1.5225	1.0271

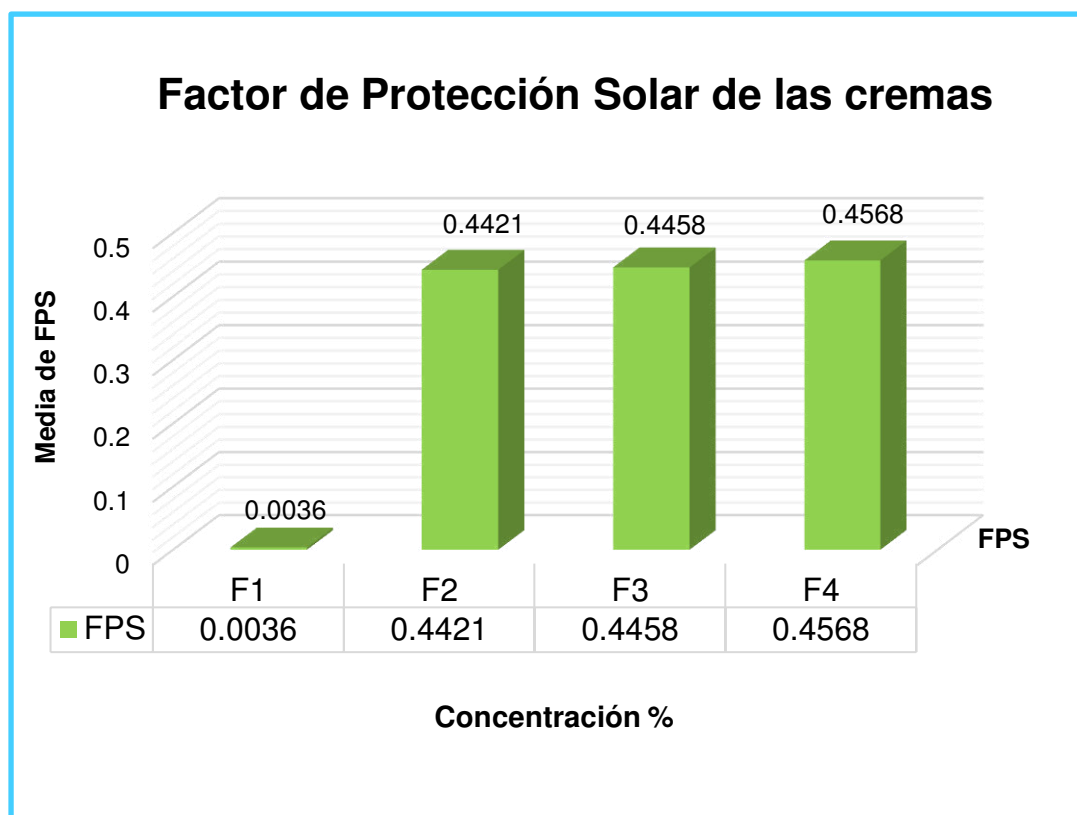
4.5. Determinación de la actividad fotoprotectora (FPS) *in vitro* frente a radiación UVB

En la siguiente tabla se muestra la comparación de las medias de los valores obtenidos del factor de protección solar (FPS) para las cremas conteniendo el extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. al 1%, 3% y 5% (F2, F3 y F4) frente a la crema base (F1).

Tabla 23. Determinación del FPS de las cremas.

λ (nm)	EE(λ) x I (λ)	PRE-FORMULACIÓN			
		F1	F2 (1%)	F3 (3%)	F4 (5%)
290	0.0150	0	0.0453	0.0467	0.0466
295	0.0817	0.0001	0.0448	0.0457	0.0464
300	0.2874	0.0003	0.0449	0.0448	0.0459
305	0.3278	0.0004	0.0444	0.0445	0.0456
310	0.1864	0.0005	0.0432	0.0443	0.0453
315	0.0839	0.0004	0.0429	0.0436	0.0454
320	0.018	0.0006	0.0423	0.0432	0.0448
FPS FINAL		0.0036	0.4421	0.4458	0.4568

Figura 23. Comparación del FPS de la pre-formulación F1, F2, F3 y F4 obtenidas por el método *in vitro* de Mansur *et al.*



V. DISCUSIÓN

En la marcha fitoquímica del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f., se detectó la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, azúcares, antraquinonas, triterpenoides y antocianinas, esto difiere con un trabajo realizado por Ramos-Escudero *et al*⁷ en el que se reporta la medición de taninos en el extracto metanólico al 50% de Sacha papa morada, obteniendo un contenido de $9,62 \pm 0,084$ mg equivalentes de ácido gálico/100g de materia seca; como se describe en una investigación de Shalaby *et al*⁷⁵ los taninos muestran una muy buena solubilidad en una mezcla al 50% de metanol en agua. En nuestro análisis fitoquímico realizado al extracto acuoso liofilizado no se evidencia la presencia de taninos utilizando el reactivo de gelatina.

Los metabolitos secundarios detectados en nuestro estudio guardan relación con los obtenidos por otros investigadores. En el análisis bromatológico y de flavonoides desarrollado por Quispe *et al.* (2015)²⁹ muestran que los carbohidratos son los componentes predominantes en los cultivares blanco y morado de *Dioscorea trifida* L., seguidos por las proteínas y flavonoides, indicando la presencia de 21 tipos de flavonoides, siendo las isoflavonas los más representativos. Estos resultados concuerdan con los reportados por Pilco y Sifuentes (2014)⁷⁶ y Colomé *et al.* (2010)⁷⁷. También se mencionó en este estudio que los componentes mayoritarios del grupo de carbohidratos son los polisacáridos (almidón) amilosa y amilopectina. El 80% de la composición de la sachapa morada son los carbohidratos como el almidón es por ello que se le atribuye también como una excelente fuente alimenticia⁷. Zavaleta *et al*⁸ reportaron la presencia de ácidos fenólicos como clorogénico, ferúlico y cafeico, y el flavonoide rutina, que si bien el contenido reportado es bajo, estos presentan dentro de su estructura el grupo hidroxilo que determina su propiedad antioxidante.

En los resultados de la cromatografía descendente en papel, la banda observada fue eluída en metanol acidificado (0.01% de HCl) y analizada con el espectrofotómetro UV-visible detectándose una λ máxima de 536 nm que

coincide con los estudios de Vargas *et al.* (2002)⁶⁶ donde reportó que la antocianina: cianidina 3-glucósido tiene un valor espectral de 535 nm. Según la literatura, los resultados obtenidos no pueden ser concluyentes, por lo que se sugiere sean contrastados con HPLC. En la investigación de Ramos *et al.*⁷, en conformidad con la antocianina identificada, detectaron 12 pigmentos de antocianinas presentes en el tubérculo de sachapapa morada (*Dioscorea trifida* L.) por HPLC-DAD-ESI/MS, la mayoría de antocianinas correspondieron a diglucósidos acilados con ácidos ferúlicos o p-cumáricos. Se ha reportado que estos tipos de compuestos muestran una mayor estabilidad al calor, luz, pH y blanqueo al sulfito con respecto a los monoglucósidos y antocianinas no aciladas.

Se evaluó la actividad antioxidante total del extracto por dos métodos *in vitro*, el primero fue por el método DPPH[•], donde se obtuvo una concentración inhibitoria (IC₅₀) de 64.3518 µg/mL lo que demuestra su capacidad antioxidante. En comparación con el Trolox®, el valor del TEAC fue de 44.5672 mg Trolox®/g muestra. En un estudio previo del extracto hidroalcohólico de sachapapa morada recolectado en la ciudad de Tingo María, demostró que el valor de IC₅₀ es de 109.270 mg/mL por el método de DPPH[•], estos resultados son atribuidos a la presencia de compuestos fenólicos en la especie de *Dioscorea trifida* L.⁸ Al contrastar estos resultados con los obtenidos en el presente estudio, el IC₅₀ fue de 0.064 mg/mL por lo que se infiere que nuestro extracto tiene una mayor actividad antioxidante.

El segundo método utilizado fue ABTS^{•+}, donde se obtuvo para el extracto un IC₅₀ de 137.7749 µg/mL, determinándose según la gráfica del porcentaje de inhibición versus concentración, mediante el modelo de regresión lineal y corresponde a la concentración necesaria del extracto causante del 50% de inhibición de los radicales libres estables del ABTS^{•+}. En comparación con el Trolox®, el valor del TEAC fue de 20.5901 mg Trolox®/g muestra. Nuestros resultados difieren con los reportados por Ramos-Escudero *et al.*²⁷ donde se registra un IC₅₀ de 0.54mg/mL para el extracto metanólico de sachapapa morada, que contrastado con el nuestro, de 137.7749 µg/mL que equivale a

0.1377 mg/mL. Además el TEAC obtenido en dicho estudio fue 1.23 mg Trolox®/g muestra. La diferencia probablemente se deba al estado de madurez de la especie vegetal y características climáticas de la zona de cultivo, así como también podría deberse al tratamiento de la muestra y los solventes utilizados para la extracción de metabolitos secundarios. Otro punto importante a mencionar es que si bien en este estudio realizaron el ensayo utilizando el radical ABTS^{•+}, éste es usando una metodología distinta a la nuestra; ellos realizan lo descrito por Overveld *et al.*⁷⁹, en donde el producto de oxidación es medido a otra longitud de onda de 414 nm. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de sachapapa morada posee mayor actividad antioxidante por el método del radical ABTS^{•+} que el extracto metanólico al 50%.

Carbajal *et al.* (2012)⁷⁸ reporta en su investigación que existen estudios que confirman la presencia de compuestos fenólicos como antocianinas y taninos con potente actividad antioxidante en extractos acuosos de frutas de arándanos (*Vaccinium corymbosum* cv. Sierra), arándanos (*Vaccinium macrocarpon* cv. Ben Lear), chokeberry silvestre (*Aronia melanocarpa*) y arándanos rojos (*Vaccinium vitis-idaea* cv. Amberland).

García-Alonso *et al.*⁸⁰, reportan algunos frutos ricos en antocianinas que presentan un alto efecto antioxidante medido por IC₅₀ por el método TBARS como la fresa 50 µg/mL, frambuesa roja 55 µg/mL, cereza 74 µg/mL, zarzamora 76 µg/mL, entre otros, donde podemos afirmar que nuestro extracto tiene mayor poder antioxidante que la frambuesa roja pero menor que la cereza. Doroteo *et al.*⁹ reportaron que los extractos hidroalcohólicos de ratania, uña de gato y maíz morado en el ensayo de DPPH[•] fueron los más activos, ya que presentaron un IC₅₀ de 10.45, 12.05 y 28.89 µg/mL, respectivamente, llegando a ser casi tan potentes como el control positivo, el flavonoide rutina (IC₅₀= 6.43 ± 0.22 µg/mL). El resultado reportado en nuestra investigación se encuentra por encima de estos valores considerándose de mediano poder antioxidante en comparación con estas especies vegetales. La alta actividad antioxidante mostrada por los extractos hidroalcohólicos de ratania, uña de

gato y maíz morado parece deberse a su gran contenido de sustancias antioxidantes. Estos tres extractos fueron precisamente los que mostraron mayor concentración de ácido ascórbico, flavonoides y compuestos fenólicos totales; que son sustancias con reconocida actividad antioxidante.

Las cremas conteniendo el extracto acuoso liofilizado de *Dioscorea trifida* L.f. al 1%, 3%, y 5% se obtuvieron con éxito, ya que todas presentaron características organolépticas y fisicoquímicas aceptables, además de un buen perfil sensorial para una crema de aplicación tópica.

Al elaborar una crema dermocosmética los factores como el orden, la velocidad, la técnica y la temperatura de la mezcla de los componentes de la fórmula generan productos finales con diferentes propiedades que podrían interferir en la evaluación de sus propiedades como su actividad antioxidante y fotoprotectora. Dentro de estas formas semisólidas, se encuentran las emulsiones que están compuestas de una fase oleosa y una fase acuosa, no miscible, que a través de la acción de un agente emulsionante forman una mezcla homogénea. Estos surfactantes especiales permiten que dos sistemas que son inmiscibles puedan dispersarse y formar un producto estable. Este vehículo tiene las propiedades de ser versátil, estéticamente agradable y compatible con la incorporación de sustancias lipo e hidrosolubles, que lo convierten en una de las formas semisólidas tópicas más prescritas³⁹.

Se evaluó la actividad antioxidante de las cremas conteniendo diferentes concentraciones del extracto (tabla 1), por métodos *in vitro*, donde por el método DPPH• los resultados del IC50 (figura 16) muestran que a mayor porcentaje de extracto contenido en la crema, el IC50 es menor; lo que significa que menor será la cantidad requerida de la crema para inhibir el 50% del radical libre DPPH•. La capacidad antioxidante total expresados en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox®) de las pre-formulaciones dermocosméticas (F2, F3 y F4) fueron 0.7563, 1.4688 y 1.8836 mg Trolox®/g muestra respectivamente, demostrándose un incremento en cuanto la concentración del extracto incorporado de *Dioscorea trifida* L.f. es mayor.

Con respecto a los resultados por el método ABTS^{•+}, el IC₅₀ fue de 1.0271 mg crema/mL para la pre-formulación que contiene la mayor concentración del extracto (5%), cantidad requerida de la crema para inhibir el 50% del radical libre ABTS^{•+}. En comparación con el Trolox®, el TEAC de la crema al 5% fue 2.7619 mg Trolox®/g muestra.

En un estudio se determinó que la crema cosmética elaborada con el 5% (p/p) del extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (kunth) MC Vaugh Camu Camu tiene mayor actividad antioxidante que los extractos de piña, maracuyá, mora, guayaba, uva y fresa, utilizando el método DPPH[•]. La concentración inhibitoria media (IC₅₀) para la crema de Camu Camu fue de 1264.2603 µg/mL equivalente a 1.2642 mg crema/mL en comparación al IC₅₀ obtenido para nuestra pre-formulación F4 que fue de 1.5225 mg crema/mL, lo que demuestra que la crema dermocosmética al 5% del extracto de sachapapa morada tiene actividad antioxidante⁸¹.

Aplicando la prueba de Tukey fue determinada la diferencia significativa ($p < 0,05$) de la actividad antioxidante (porcentaje de inhibición), tanto para el método de DPPH[•] y ABTS^{•+}, del extracto y pre-formulaciones elaboradas con el extracto (1%, 3% y 5%), obteniendo un aumento significativo del IC₅₀ en todos los casos. Este aumento significativo demuestra la relación de la actividad antioxidante dependiente de la concentración y demuestra que el extracto de sachapapa morada presenta actividad antioxidante.

Debido al origen multifactorial del cáncer de piel provocado por los rayos UVB, la prevención consiste en centrarse en el factor más importante: la sobreexposición a la luz solar. El daño generado por la radiación desencadena la formación de radicales libres, los cuales son la principal fuente para el desarrollo de la carcinogénesis y pueden ser minimizadas por el uso de agentes antioxidantes⁵⁸.

Con respecto a la determinación del Factor de Protección Solar *in vitro*, la actividad fotoprotectora de una pre-formulación no solo se debe a los filtros

sintéticos o naturales presentes, sino también los excipientes pueden aportar un efecto fotoprotector a la fórmula, ya que algunos de ellos absorben la radiación UV. Tomando en consideración lo expuesto, se optó por utilizar una misma base para adicionar las diferentes concentraciones de extracto y la crema base (placebo). Así también, por factores económicos, prácticos y éticos se trabajó con un método *in vitro* para la determinación del FPS, ya que es un método rápido, de fácil ejecución, seguro y posee buena correlación con resultados obtenidos *in vitro* en estudios previos; pero cabe mencionar que el presente estudio evaluó el FPS en el rango de 290 a 320 nm (rango UVB), más no en el rango UVA ni UVC, debido a que el método de Mansur *et al.* no abarca la totalidad del rango UV (200 a 400 nm). Por lo que la eficacia evaluada de las cremas se atribuye a los compuestos que absorben radiación sólo a este rango⁸².

Acorde a nuestros resultados, el FPS obtenido en nuestras cremas se puede atribuir solo a la concentración del extracto presente en cada una de ellas, ya que como se muestra en la tabla 23, el FPS calculado para la crema base fue 0.0036. Las mediciones se analizaron espectrofotométricamente por lo cual se aseguró que las muestras estén completamente solubilizadas, según el método desarrollado por Mansur *et al*⁷³ para la determinación del FPS.

A nivel regional, en referencia al Reglamento Técnico Mercosur sobre protectores solares en cosméticos, se establece que una formulación para ser considerada como fotoprotector debe tener valores de FPS 6 como mínimo. Los resultados para las cremas F2, F3 y F4 fueron de 0.4421, 0.4458, 0.4568 respectivamente, por tanto, las pre-formulaciones elaboradas con el extracto de sachá papa morada no estarían consideradas como fotoprotectoras⁸³.

Incluso sin tener un nivel considerable de FPS *in vitro*, el extracto presentó compuestos fenólicos que podrían actuar previniendo el daño inducido por radiación ultravioleta por otros mecanismos, por ejemplo, capturando e inactivando especies reactivas de oxígeno, como quedó demostrado en nuestro resultados de prueba antioxidante¹⁹.

Es importante acotar que hay muchos factores que afectan la determinación del FPS, entre ellos, el tipo de emulsión que se utiliza como vehículo para el extracto, las interacciones, positiva (sinergismo) o negativa, con los componentes de la pre-formulación; como por ejemplo, con emolientes, emulsionantes y *boosters*; la adición de otros ingredientes activos; el pH y las propiedades reológicas de la pre-formulación, entre otros factores, que pueden potenciar o disminuir la absorción de la radiación UV de cada protector solar⁵⁸.

La fotodegradación de los filtros solares genera especies reactivas de oxígeno que pueden dañar las estructuras de la piel y un extracto vegetal antioxidante que se incorpore en la pre-formulación podría actuar capturando estas especies reactivas y aumentando la fotoestabilidad de los filtros solares¹⁹. Cerqueira-Coutinho *et al.* (2015)⁸⁴ descubrieron que la adición de extracto de granada a una pre-formulación fotoprotectora incrementó la fotoestabilidad de los filtros solares, por la presencia de alta actividad antioxidante del extracto expresada como IC50 según la prueba de DPPH•.

De ahí partimos que la actividad antioxidante demostrada en nuestro trabajo de investigación, contribuye para próximas investigaciones que evalúen la fotoestabilidad de filtros solares en combinación con el extracto de sachá papa morada, con importante presencia de antocianinas.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) con importante presencia de antocianinas presentó significativa actividad antioxidante por el método de DPPH[•] y ABTS^{•+}.
2. Se obtuvo con éxito la pre-formulación de la crema dermocosmética que evidencia buenas características organolépticas y fisicoquímicas con 1%, 3% y 5% del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada).
3. La crema dermocosmética elaborada con el 5% del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) presentó significativa actividad antioxidante.
4. Los valores del factor de protección solar obtenidos en las cremas dermocosméticas elaboradas con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada) al 1, 3 y 5%, fueron bajos, no considerándose fotoprotector UVB, según el método de Mansur *et al.*

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar el estudio en otros tipos de pre-formulaciones dermocosméticas, como geles, lociones o spray, con el objetivo de registrar el desempeño de los metabolitos secundarios en estos vehículos, porque a pesar de que la especie vegetal de *Dioscorea trifida* L.f. es una planta nativa de América Central y del Sur, no se ha investigado por completo en nuestro país.
2. Continuar con el estudio de la capacidad antioxidante en sistemas *in vivo* para respaldar los resultados obtenidos en la presente investigación, debido a que existe una diferencia entre actividad antioxidante y actividad antiradical, y éstas no necesariamente coinciden. La primera se caracteriza por la habilidad de los componentes para reaccionar con radicales libres (en una sola reacción) pero la actividad antioxidante representa la habilidad para inhibir el proceso de oxidación (usualmente, un conjunto de diferentes reacciones); en consecuencia todos los ensayos en donde se usa radicales libres estables como DPPH[•] y ABTS^{•+} nos ofrecen información sobre una actividad antiradical.
3. Incorporar el extracto del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. en pre-formulaciones fotoprotectoras para evaluar su desempeño y aporte a la fotoestabilidad de los filtros solares sintéticos.
4. Desarrollar pre-formulaciones donde se incorporen extractos naturales con el objetivo de explorar su actividad fotoprotectora, ya que existe un gran interés por usar productos naturales botánicos para prevenir el daño causado por la radiación UV.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Miranda G., Medina E. Boletín del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú: Radiación Ultravioleta B de Tacna y Moquegua. Dirección Regional de Tacna- Moquegua. SENAMHI. Ministerio del Ambiente. 2016.
2. González M., Vernhes M., Sánchez Á. La radiación ultravioleta. Su efecto dañino y consecuencias para la salud humana. *Theoria*. 2009; **18**(2): 69-80.
3. Euromonitor Internacional. Beauty and Personal Care in Peru. Disponible en: <http://www.euromonitor.com/beauty-and-personal-care-in-peru/report> [consultado 10 Dic. 2018].
4. Raju J., Rao C. Bioactive Compounds in Phytomedicine: Diosgenin, a Steroid Saponin Constituent of Yams and Fenugreek: Emerging Evidence for Applications in Medicine. Croatia: Intechopen; 2012.
5. Khoo H., Azlan A., Teng Tang S., Meng Lim S. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*. 2017; **61**(1):1-15.
6. Mignouna H., Abang M., Asiedu R., Geeta R. True Yams (*Dioscorea*): A Biological and Evolutionary Link between Eudicots and Grasses. *Cold. Spring Harb. Protoc*. 2009; **4**(11):1-7.
7. Ramos-Escudero F., Santos-Buelga C., Perez-Alonso J., Yáñez J., Dueñas M. HPLC-DAD-ESI/MS identification of anthocyanins in *Dioscorea trifida* L. yam tubers (purple Sachapapa). *Eur Food Rev Technol*. 2010; **230**: 745-752.
8. Zavaleta J., Muñoz A., Blanco T., Alvarado C., Loja B. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. [en línea] *Horizonte Médico*. 2005; **5**(2). Disponible en: <http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/251>.
9. Doroteo V., Díaz C., Terry C., Rojas R. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* de 6 plantas peruanas. [en línea] *Rev. Soc. Quím. Perú* 2013, **79** (1). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810634X2013000100003.

10. Nichols JA., Katiyar SK. Skin photoprotection by natural polyphenols: antiinflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Arch Dermatol Res.* 2010; **302**:71–83.
11. Soares Dos Reis G., Furtado Valadão A., Ramos Paes De Lima L., Moreira M. Preparación de un protector solar y evaluación de la acción fotoprotectora del propóleo verde del Vale do Aço, Minas Gerais, Brasil. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat.* 2009; **8**(4): 282 – 288.
12. Chanchal D., Swarnlata S. Herbal photoprotective formulations and their evaluation. *Open Nat. Prod. J.* 2009; **2**(1):71-76.
13. Young A, Claveau J, Rossi A. Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection. *Am Acad Dermatology.* 2016; **76**(3): S100–S109.
14. Afaq F., Mukhtar H. Botanical antioxidants in the prevention of photocarcinogenesis and photoaging. *Exp Dermatol.* 2006; **15**(9):678–684.
15. Tinajero Robalino M. Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad fotoprotectora in-vitro del componente flavónico presente en *Bidens andicola* (ñachag). [Tesis para optar el título profesional de Bioquímica Farmacéutica]. [en línea]. Riobamba. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. 2015. Disponible en:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4012/1/56T00535%20UDCTFC.pdf>
16. Lomas A., Leonardi-Bee J., Bath-Hextall F. A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol.* 2012; **166**(5): 1069-1080.
17. Ramos W., Venegas D. Análisis de la Situación de Cáncer en el Perú, Lima: Ministerio de Salud. Dirección General de Epidemiología; 2013. Disponible en: http://www.dge.gob.pe/portal/docs/asis_cancer.pdf
18. Inen.sld.pe. Datos epidemiológicos. [en línea] Disponible en: <http://www.inen.sld.pe/portal/estadisticas/datos-epidemiologicos.html> [consultado el 10 Mar. 2017].
19. Mansur M., Leitão S., Cerqueira-Coutinho C., Vermelho A., Silva R., Leitão A., et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of efficacy and safety of

- photoprotective formulations containing antioxidant extracts. *Rev Bras Farmacogn.* 2016; **26**: 251-258.
20. Dutra E., Gonçalves D., Kedor Hackmann E., Rocha M. Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* 2004; **40**(3): 381-385.
 21. Galanakis C., Tsatalasa P., Galanakis I. Implementation of phenols recovered from olive mill wastewater as UV booster in cosmetics. *Industrial Crops & Products.* 2018; **111**: 30–37.
 22. Sánchez-Quiles D., Tovar-Sánchez A. Are sunscreens a new environmental risk associated with coastal tourism? [en línea] *Environ. Int.* 2015; **83**: 158 – 170. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26142925>.
 23. Cajamarca D. Determinación de la actividad fotoprotectora in vitro de los extractos de *Oreocallis grandiflora*. [Tesis para optar el título profesional de Bioquímico Farmacéutico] [en línea]. Riobamba. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. 2016. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6331/1/56T00674.PDF>.
 24. Nascimento WF., Siqueira MVBM., Ferreira AB., Ming LC., Peroni N., Veasey EA. Distribution, management and diversity of the endangered Amerindian yam (*Dioscorea trifida* L.). *Braz. J. Biol.* 2015; **75**(1):104-113.
 25. Brack Egg A. Frutas del Perú. Lima: Universidad San Martín de Porres; 2013.
 26. Lertpatcharasirikul P., Daensopon K. , Sakuanrungsirikul S. , Hongsprabhas P. Effect of dairy ingredients and sucrose on pasting characteristics of purple yam (*Dioscorea alata* L.) flour. Tailandia: Conference: Starch Update 2013: The 7th International Conference on Starch Technology; 2013.
 27. Ramos-Escudero F., Muñoz A., Alvarado-Ortiz C., Yáñez J. Antocianinas, polifenoles, actividad antioxidante de Sachapapa morada (*Dioscorea trifida* L.) y evaluación de lipoperoxidación en suero humano. *Rev Soc Quím Perú.* 2010; **76**(1): 61-72.
 28. Garzón G. Las antocianinas como colorantes naturales y Compuestos bioactivos: Revisión. *Acta biol. Colomb.* 2008; **13**(3): 27 - 36.
 29. Quispe M., Adrianzén P., Alva A., Pérez M., Imán S., Marapara J., Castro J. Análisis bromatológico y de flavonoides de los cultivares blanco y morado de

- Dioscorea trifida* L. (Sachapapa) de la región Loreto. *Conoc. amaz.* 2015; **6**(2): 85-90.
30. Silva R., Costa S., Branco C. *In vitro* photoprotective activity of the *Spondias purpurea* L. peel crude extract and its incorporation in a pharmaceutical formulation. *Industrial Crops and Products*. 2016; (83):509-514.
 31. Comisión de la Comunidad Andina. DECISIÓN 516. Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos. Gaceta Oficial del Acuerdo de Cartagena, N° 771. 2002. Disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/upload/uploaded/pdf/decision5166.pdf>
 32. Gonzales M. El ñame (*Dioscorea spp.*). Características, usos y valor medicinal. aspectos de importancia en el desarrollo de su cultivo. *Cultivos Tropicales*. 2012; **33**(4): 5-15.
 33. Rossi CA, De León M, González GL, Pereyra AM. Presencia de metabolitos secundarios en el follaje de diez leñosas de ramoneo en el bosque xerofítico del chaco árido argentino. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* [en línea]. 2007; **7**(2):133-143. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93970208>
 34. Marín D., Del Pozo A., Filtros solares. Características, tipos y requerimientos. *Farmacia práctica*. 2005; **24** (9):175-178.
 35. Quiñones M., Miguel M., Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*. 2012; **27**(1): 76-89.
 36. Gonzales S. Evaluación de la relación Estructura – Actividad Antioxidante de antocianinas mediante métodos computacionales. [Tesis para optar el título profesional de Ingeniero de Alimentos]. México D.F. Universidad Tecnológica de la Mixteca. 2007.
 37. Castañeda A., Guerrero J. Pigmentos en frutas y pigmentos rojas antocianinas. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2015; **9**: 25-33. Disponible en : <http://web.udlap.mx/tsia/files/2016/05/TSIA-9-Castaneda-Sanchez-et-al-2015.pdf>
 38. Castañeda B. Inducción de antocianinas y capacidad antioxidante por oligogalacturónidos en uvas de mesa cv. 'Flame Seedless'. [Tesis para

- obtener el grado de Maestría en ciencias]. Hermosillo. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. 2010.
39. Schalka S., Steiner D., Ravelli F., Steiner T., Terena A., Marçon C., *et al.* Brazilian Consensus on Photoprotection. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2014; **89**(6): 1-74.
 40. Kuskoski E., Asuero A., García M. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 2004; **24**(4): 691-693.
 41. Lonjete G. Curso de fotoprotección. [en línea]. Disponible en: <https://www.portalfarma.com/Profesionales/campanaspf/categorias/Documentos/MAQUETACION%20MATERIAL%20FORMATIVO%20fotoproteccionfotproc2010.pdf>
 42. Gutierrez J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Militar*. 2002; **31**(2): 126 – 133.
 43. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*. 2010; **4**(8): 118-26.
 44. Corrales L., Muñoz M. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*. 2012; **10**: 213-225. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>
 45. Halliwell B. Reactive species and antioxidants redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*. 2006; **141**: 312 -322. Disponible en: <http://www.plantphysiol.org/content/plantphysiol/141/2/312.full.pdf>
 46. Ugartondo V. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares. [Tesis para optar el título de Doctor en Farmacia] [en línea]. Barcelona. Universidad de Barcelona. 2009. Disponible en: https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/1837/04.VUC_DISCUSION.pdf?sequence=5&isAllowed=y
 47. Fang YZ., Yang S., Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 2002; **18**(10): 872–879.
 48. Soto M., Raventós H. Papel del estrés oxidativo en la esquizofrenia. *Acta Médica Costarricense*. 2008; **50**(4): 197-202.

49. Rhodes LE, Shahbakhti H, Azurdia RM, Moison RM, Steenwinkel MJ, Homburg MI, *et al.* Effect of eicosapentaenoic acid, an omega-3 polyunsaturated fatty acid, on UVR-related cancer risk in humans. An assessment of early genotoxic markers. *Carcinogenesis*. 2003; **24**(5): 919–925.
50. Valenzuela K., Espinoza M. Estrés oxidativo, carcinogénesis cutánea por radiación solar y quimioprotección con polifenoles. *Piel*. 2012; **27**(8): 446 – 452.
51. Cazorla M. Actividad fotoprotectora de la maracuyá (*Passiflora edulis*), ishpingo (*Ocotea quixos*) en fototipos III (*Homo sapiens*) para elaboración de un protector solar. [Tesis para optar el título profesional de Bioquímico Farmacéutico]. [en línea]. Riobamba. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. 2013. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2556/1/56T00323.pdf>
52. Palomino M. Fisiología de la piel. *Dermatología Peruana*. 2001; **11**(2). [en línea] Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v11_n2/fisio_piel.htm
53. Labre L. Estudio de la actividad fotoprotectora de la *Buddleja incana*, en fototipos de piel III para la elaboración de un protector solar. [Tesis para optar el título profesional de Bioquímico Farmacéutico] [en línea]. Riobamba. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo. 2015. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4021>
54. Bickers D., Athar M. Oxidative Stress in the Pathogenesis of Skin Disease. *J Invest Dermatol*. 2006; **126**(12): 2565–2575.
55. Yaar M., Gilchrist B. Skin aging: postulated mechanisms and consequent changes in structure and function. *Clinics in Geriatric Medicine*. 2001; **17**(4): 617–630.
56. Sander C., Chang H., Salzmänn S., Müller C., Ekanayake-Mudiyanselage S., Elsner P., *et al.* Photoaging is associated with protein oxidation in human skin *in vivo*. *Journal of Investigative Dermatology*. 2002; **118**(4): 618–625.
57. Duro E., Campillos M., Causín S. El sol y los filtros solares. *MEDIFAM*. 2003; **13**(3): 159-165.

58. Saraf S., Kaur CD. Phytoconstituents as photoprotective novel cosmetics formulations. *Pharmacognosy Reviews*. 2010; **4**(7): 1-11.
59. Barradas T., Campos V., Senna, J., Coutinho C., Silva K., Mansur C. Development and characterization of promising o/w nanoemulsions containing sweet fennel essential oil and non-ionic surfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2015; **480**: 214-221.
60. Mansur M., Leitão S., Lima L., Ricci-Júnior E., Souza G., Barbi N., *et al.* Evaluation of the antioxidant and phototoxic potentials of *Bauhinia microstachya* var. *massambabensis* Vaz leaf extracts. *Lat. Am. J. Pharm.* 2012; **31**(2): 200–206.
61. Campos P., Gianeti M., Kanashiro A., Lucisano-Valim Y., Gaspar L. *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effects of an association of bioflavonoids with liposoluble vitamins. *Photochemistry and Photobiology*. 2006; **82**: 683-688.
62. Batlle C. Factor de protección solar. *Offarm*. 2005; **24**(6): 65-72.
63. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Alternativas de Aplicación del Proceso de Liofilización en Frutas y Hortalizas compatible con la Normativa Orgánica. República de Argentina. 2018.p 26.
64. Cobana, M; Antezana, R. - Proceso de extracción de almidón de yuca por vía seca - Revista Boliviana de Química. 2007; **24**(1); 78-84.
65. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio en los Productos Naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2004.
66. Vargas G., Soto R., Rodríguez M. Análisis preliminar de antocianinas en fruto de icaco (*Chrysobalanus icaco* L.). *Rev. Fitotec. Mex.* 2002; **25**(3): 261 - 264.
67. Márquez G. Capacidad antioxidante y caracterización estructural de las antocianinas de los frutos rojos de *Prunus domestica* L., *Ficus carica* L. y *Vitis vinifera* L. c.v. "red globe" cultivados en Perú. [Tesis para optar al Grado Magíster en Recursos Vegetales y Terapéuticos]. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2011.
68. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. Brasilia: Gerencia General de Cosméticos; 2005 p. 16-40.

69. Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*. 1995; **28**(1): 25-30.
70. Alam Md., Bristi N., Rafiquzzaman Md. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2013; **21**(2): 143-152.
71. Re R., Pellegrini N., Preteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999; **26**(9-10): 1231-1237.
72. Kuskoski E., Asuero A., Troncoso A., Garcia-Parilla M., Fett R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Rev. Bras. Ciênc. Tecnol. Alim*. 2004; **24**(4): 691-693.
73. Mansur JS, Breder MVR, Mansur MCA, Azulay RD. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras Dermatol*. 1986; **61**(1): 121-124.
74. Barragan M. Evaluación y caracterización de compuestos bioactivos del mio – mio (*coriaria ruscifolia* l) por espectroscopia FTIR y HPLC. [Tesis para optar el título de doctor en ciencias]. Universidad Nacional del Altiplano. 2017.
75. Shalaby E., Shanab S. Comparison of DPPH and ABTS assay for determining antioxidant potencial of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Geo-marine sciences*. 2013; **42**(5):556-564.
76. Pilco M., Sifuentes J. Valor nutricional de las especies vegetales *Calathea allouia* (dale dale) y *Dioscorea trifida* (Sachapapa morada). [Tesis para optar el título profesional de licenciado en bromatología y nutrición humana]. Iquitos. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. 2014.
77. Colomé F., García-Pinchi R., Carranza J., Alva A. Obtención del colorante de *Dioscorea trifida* (Sachapapa morada) por atomización. *Conocimiento Amazónico*. 2010; **1**(1): 77-83.
78. Carvajal L., El Hadi C., Cartagena L., Peláez C., Gabiria C., Rojano B. Capacidad antioxidante de dos variedades de *Fragaria x ananassa* (Weston) Duchesne (fresa) sometidas a variaciones en la nutrición vegetal. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2012; **17**(1): 37-53.

79. Overveld F., Haenen G., Rhemrev J., Vermeiden J., Bast A. Tyrosine as important contributor to the antioxidant capacity of seminal plasma. *Chem Biol Interact.* 2000; **127**(2): 151 – 161.
80. García-Alonso M., Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J.. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chem.* 2004; **84**(1): 13-18.
81. Ramos I. Capacidad antioxidante in vitro y actividad regeneradora *in vivo* de una crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (kunth) MC Vaugh Camu Camu. [Tesis Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética]. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017.
82. Inocente M., Tomas G., Huamán J., Palomino M., Bonilla P. Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HbK). *Rev Per Quím Ing Quím.* 2014; 17(2): 27-33.
83. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA). Reglamento técnico MERCOSUL sobre protectores solares en cosméticos. Resolución - RDC N° 30 de 1º de junio de 2012.
84. Cerqueira-Coutinho C., Santos-Oliveira R., Santos E., Mansur C. Development of a photoprotective and antioxidant nanoemulsion containing chitosan as an agent for improving skin retention. *Eng Life Sci.* 2015; **15**(6): 593–604.

IX. ANEXOS

ANEXO 1. Clasificación taxonómica de *Dioscorea trifida* L.f.



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 307-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tubérculo, hoja y fruto), recibida de **María De los Milagros ECHAIZ VELIZ**; de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Dioscorea trifida* L.f.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: LILIOPSIDA

SUB CLASE: LILIIDAE

ORDEN: LILIALES

FAMILIA: DIOSCOREACEAE

GENERO: *Dioscorea*

ESPECIE: *Dioscorea trifida* L.f.;

Nombre vulgar: "sacha papa morada, flame"

Determinado por: Bga. Severo Baldeón Malpartida

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 05 de setiembre de 2018



Mag. ASUNCION A. CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

ANEXO 2. Análisis estadístico del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f., método DPPH•

ANOVA

Absorbancia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,244	3	,081	944,208	,000
Dentro de grupos	,001	8	,000		
Total	,245	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancia

HSD Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 ug/mL	25 ug/mL	.1219667*	.0075789	,000	.097696	.146237
	50 ug/mL	.2193000*	.0075789	,000	.195030	.243570
	100 ug/mL	.3899333*	.0075789	,000	.365663	.414204
25 ug/mL	0 ug/mL	-.1219667*	.0075789	,000	-.146237	-.097696
	50 ug/mL	.0973333*	.0075789	,000	.073063	.121604
	100 ug/mL	.2679667*	.0075789	,000	.243696	.292237
50 ug/mL	0 ug/mL	-.2193000*	.0075789	,000	-.243570	-.195030
	25 ug/mL	-.0973333*	.0075789	,000	-.121604	-.073063
	100 ug/mL	.1706333*	.0075789	,000	.146363	.194904
100 ug/mL	0 ug/mL	-.3899333*	.0075789	,000	-.414204	-.365663
	25 ug/mL	-.2679667*	.0075789	,000	-.292237	-.243696
	50 ug/mL	-.1706333*	.0075789	,000	-.194904	-.146363

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 3. Análisis estadístico de la crema al 1% del extracto de *Dioscorea trifida* L. f., método DPPH•

ANOVA

Absorbancia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,064	4	,016	124,194	,000
Dentro de grupos	,001	10	,000		
Total	,066	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancia

HSD Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 mg/mL	0.83 mg/mL	.0496333*	.0093009	,002	.019023	.080244
	1.66 mg/mL	.0947000*	.0093009	,000	.064090	.125310
	3.33 mg/mL	.1487333*	.0093009	,000	.118123	.179344
	6.66 mg/mL	.1817000*	.0093009	,000	.151090	.212310
0.83 mg/mL	0 mg/mL	-.0496333*	.0093009	,002	-.080244	-.019023
	1.66 mg/mL	.0450667*	.0093009	,005	.014456	.075677
	3.33 mg/mL	.0991000*	.0093009	,000	.068490	.129710
	6.66 mg/mL	.1320667*	.0093009	,000	.101456	.162677
1.66 mg/mL	0 mg/mL	-.0947000*	.0093009	,000	-.125310	-.064090
	0.83 mg/mL	-.0450667*	.0093009	,005	-.075677	-.014456
	3.33 mg/mL	.0540333*	.0093009	,001	.023423	.084644
	6.66 mg/mL	.0870000*	.0093009	,000	.056390	.117610
3.33 mg/mL	0 mg/mL	-.1487333*	.0093009	,000	-.179344	-.118123
	0.83 mg/mL	-.0991000*	.0093009	,000	-.129710	-.068490
	1.66 mg/mL	-.0540333*	.0093009	,001	-.084644	-.023423
	6.66 mg/mL	.0329667*	.0093009	,034	.002356	.063577
6.66 mg/mL	0 mg/mL	-.1817000*	.0093009	,000	-.212310	-.151090
	0.83 mg/mL	-.1320667*	.0093009	,000	-.162677	-.101456
	1.66 mg/mL	-.0870000*	.0093009	,000	-.117610	-.056390
	3.33 mg/mL	-.0329667*	.0093009	,034	-.063577	-.002356

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 4. Análisis estadístico de la crema al 3% del extracto de *Dioscorea trifida* L.f., método DPPH•

ANOVA

Absorbancia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,252	3	,084	1303,280	,000
Dentro de grupos	,001	8	,000		
Total	,253	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancia

HSD Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 mg/mL	0.83 mg/mL	.1249333*	.0065596	,000	.103927	.145939
	1.66 mg/mL	.2241333*	.0065596	,000	.203127	.245139
	3.33 mg/mL	.3965667*	.0065596	,000	.375561	.417573
0.83 mg/mL	0 mg/mL	-.1249333*	.0065596	,000	-.145939	-.103927
	1.66 mg/mL	.0992000*	.0065596	,000	.078194	.120206
	3.33 mg/mL	.2716333*	.0065596	,000	.250627	.292639
1.66 mg/mL	0 mg/mL	-.2241333*	.0065596	,000	-.245139	-.203127
	0.83 mg/mL	-.0992000*	.0065596	,000	-.120206	-.078194
	3.33 mg/mL	.1724333*	.0065596	,000	.151427	.193439
3.33 mg/mL	0 mg/mL	-.3965667*	.0065596	,000	-.417573	-.375561
	0.83 mg/mL	-.2716333*	.0065596	,000	-.292639	-.250627
	1.66 mg/mL	-.1724333*	.0065596	,000	-.193439	-.151427

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 5. Análisis estadístico de la crema al 5% del extracto de *Dioscorea trifida* L.f., método DPPH•

ANOVA

Absorbancia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,258	3	,086	1772,861	,000
Dentro de grupos	,000	8	,000		
Total	,259	11			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancia

HSD Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 mg/mL	0.83 mg/mL	.1341667*	.0056895	,000	.115947	.152386
	1.66 mg/mL	.2711667*	.0056895	,000	.252947	.289386
	3.33 mg/mL	.3915333*	.0056895	,000	.373314	.409753
0.83 mg/mL	0.00 mg/mL	-.1341667*	.0056895	,000	-.152386	-.115947
	1.66 mg/mL	.1370000*	.0056895	,000	.118780	.155220
	3.33 mg/mL	.2573667*	.0056895	,000	.239147	.275586
1.66 mg/mL	0.00 mg/mL	-.2711667*	.0056895	,000	-.289386	-.252947
	0.83 mg/mL	-.1370000*	.0056895	,000	-.155220	-.118780
	3.33 mg/mL	.1203667*	.0056895	,000	.102147	.138586
3.33 mg/mL	0.00 mg/mL	-.3915333*	.0056895	,000	-.409753	-.373314
	0.83 mg/mL	-.2573667*	.0056895	,000	-.275586	-.239147
	1.66 mg/mL	-.1203667*	.0056895	,000	-.138586	-.102147

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 6. Análisis estadístico del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f., método ABTS**.

ANOVA

Absorbancia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,298	4	,075	1263,496	,000
Dentro de grupos	,001	10	,000		
Total	,299	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancia

HSD Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 ug/mL	25 ug/mL	.0720333 [*]	.0062744	,000	.051384	.092683
	50 ug/mL	.1302333 [*]	.0062744	,000	.109584	.150883
	100 ug/mL	.2502667 [*]	.0062744	,000	.229617	.270916
	160 ug/mL	.4001333 [*]	.0062744	,000	.379484	.420783
25 ug/mL	0 ug/mL	-.0720333 [*]	.0062744	,000	-.092683	-.051384
	50 ug/mL	.0582000 [*]	.0062744	,000	.037551	.078849
	100 ug/mL	.1782333 [*]	.0062744	,000	.157584	.198883
	160 ug/mL	.3281000 [*]	.0062744	,000	.307451	.348749
50 ug/mL	0 ug/mL	-.1302333 [*]	.0062744	,000	-.150883	-.109584
	25 ug/mL	-.0582000 [*]	.0062744	,000	-.078849	-.037551
	100 ug/mL	.1200333 [*]	.0062744	,000	.099384	.140683
	160 ug/mL	.2699000 [*]	.0062744	,000	.249251	.290549
100 ug/mL	0 ug/mL	-.2502667 [*]	.0062744	,000	-.270916	-.229617
	25 ug/mL	-.1782333 [*]	.0062744	,000	-.198883	-.157584
	50 ug/mL	-.1200333 [*]	.0062744	,000	-.140683	-.099384
	160 ug/mL	.1498667 [*]	.0062744	,000	.129217	.170516
160 ug/mL	0 ug/mL	-.4001333 [*]	.0062744	,000	-.420783	-.379484
	25 ug/mL	-.3281000 [*]	.0062744	,000	-.348749	-.307451
	50 ug/mL	-.2699000 [*]	.0062744	,000	-.290549	-.249251
	100 ug/mL	-.1498667 [*]	.0062744	,000	-.170516	-.129217

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 7. Análisis estadístico de la crema al 1% del extracto de *Dioscorea trifida* L.f., método ABTS^{•+}.

ANOVA

Absorbancia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,003	4	,001	103,852	,000
Dentro de grupos	,000	10	,000		
Total	,004	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancia

HSD Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 mg/mL	0.1 mg/mL	.0075667	.0023599	,057	-.000200	.015333
	0.2 mg/mL	.0139667*	.0023599	,001	.006200	.021733
	0.4 mg/mL	.0252333*	.0023599	,000	.017467	.033000
	0.8 mg/mL	.0436000*	.0023599	,000	.035833	.051367
0.1 mg/mL	0.1 mg/mL	-.0075667	.0023599	,057	-.015333	.000200
	0.2 mg/mL	.0064000	.0023599	,122	-.001367	.014167
	0.4 mg/mL	.0176667*	.0023599	,000	.009900	.025433
	0.8 mg/mL	.0360333*	.0023599	,000	.028267	.043800
0.2 mg/mL	0 mg/mL	-.0139667*	.0023599	,001	-.021733	-.006200
	0.1 mg/mL	-.0064000	.0023599	,122	-.014167	.001367
	0.4 mg/mL	.0112667*	.0023599	,005	.003500	.019033
	0.8 mg/mL	.0296333*	.0023599	,000	.021867	.037400
0.4 mg/mL	0 mg/mL	-.0252333*	.0023599	,000	-.033000	-.017467
	0.1 mg/mL	-.0176667*	.0023599	,000	-.025433	-.009900
	0.2 mg/mL	-.0112667*	.0023599	,005	-.019033	-.003500
	0.8 mg/mL	.0183667*	.0023599	,000	.010600	.026133
0.8 mg/mL	0 mg/mL	-.0436000*	.0023599	,000	-.051367	-.035833
	0.1 mg/mL	-.0360333*	.0023599	,000	-.043800	-.028267
	0.2 mg/mL	-.0296333*	.0023599	,000	-.037400	-.021867
	0.4 mg/mL	-.0183667*	.0023599	,000	-.026133	-.010600

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 8. Análisis estadístico de la crema al 3% del extracto de *Dioscorea trifida* L.f., método ABTS^{•+}.

ANOVA

Absorbancia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,014	4	,004	9,237	,002
Dentro de grupos	,004	10	,000		
Total	,018	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancia

HSD Tukey

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 mg/mL	0.1 mg/mL	.0158333	.0160653	,856	-.037039	.068705
	0.2 mg/mL	.0280333	.0160653	,452	-.024839	.080905
	0.4 mg/mL	.0512000	.0160653	,059	-.001672	.104072
	0.8 mg/mL	.0886667*	.0160653	,002	.035795	.141539
0.1 mg/mL	0 mg/mL	-.0158333	.0160653	,856	-.068705	.037039
	0.2 mg/mL	.0122000	.0160653	,937	-.040672	.065072
	0.4 mg/mL	.0353667	.0160653	,254	-.017505	.088239
	0.8 mg/mL	.0728333*	.0160653	,007	.019961	.125705
0.2 mg/mL	0 mg/mL	-.0280333	.0160653	,452	-.080905	.024839
	0.1 mg/mL	-.0122000	.0160653	,937	-.065072	.040672
	0.4 mg/mL	.0231667	.0160653	,617	-.029705	.076039
	0.8 mg/mL	.0606333*	.0160653	,024	.007761	.113505
0.4 mg/mL	0 mg/mL	-.0512000	.0160653	,059	-.104072	.001672
	0.1 mg/mL	-.0353667	.0160653	,254	-.088239	.017505
	0.2 mg/mL	-.0231667	.0160653	,617	-.076039	.029705
	0.8 mg/mL	.0374667	.0160653	,212	-.015405	.090339
0.8 mg/mL	0 mg/mL	-.0886667*	.0160653	,002	-.141539	-.035795
	0.1 mg/mL	-.0728333*	.0160653	,007	-.125705	-.019961
	0.2 mg/mL	-.0606333*	.0160653	,024	-.113505	-.007761
	0.4 mg/mL	-.0374667	.0160653	,212	-.090339	.015405

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

**ANEXO 9. Análisis estadístico de la crema al 5% del extracto de
Dioscorea trifida L.f., método ABTS**.**

ANOVA

Absorbancia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,346	5	,069	1236,732	,000
Dentro de grupos	,001	12	,000		
Total	,347	17			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancia

HSD Tukey

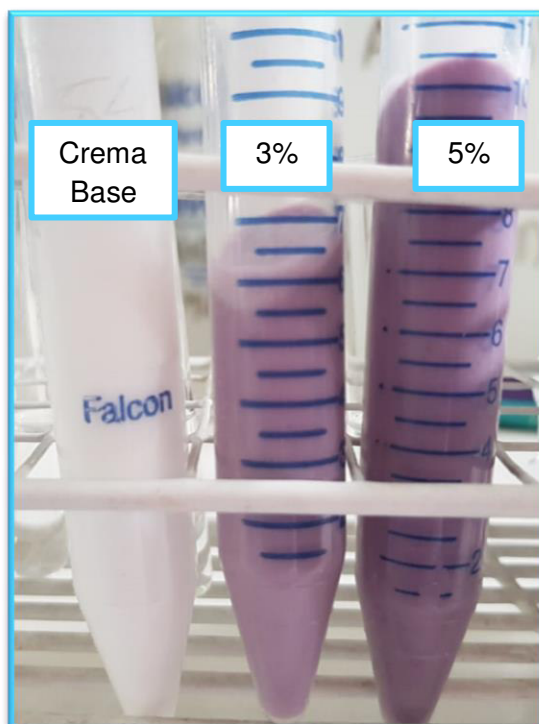
(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 mg/mL	0.1 mg/mL	.0133667	.0061117	,310	-.007162	.033895
	0.2 mg/mL	.0256667	.0061117	,012	.005138	.046195
	0.4 mg/mL	.1170667	.0061117	,000	.096538	.137595
	0.8 mg/mL	.2658333	.0061117	,000	.245305	.286362
	1.2 mg/mL	.3655667	.0061117	,000	.345038	.386095
0.1 mg/mL	0.1 mg/mL	-.0133667	.0061117	,310	-.033895	.007162
	0.2 mg/mL	.0123000	.0061117	,389	-.008229	.032829
	0.4 mg/mL	.1037000	.0061117	,000	.083171	.124229
	0.8 mg/mL	.2524667	.0061117	,000	.231938	.272995
	1.2 mg/mL	.3522000	.0061117	,000	.331671	.372729
0.2 mg/mL	0.1 mg/mL	-.0256667	.0061117	,012	-.046195	-.005138
	0.2 mg/mL	-.0123000	.0061117	,389	-.032829	.008229
	0.4 mg/mL	.0914000	.0061117	,000	.070871	.111929
	0.8 mg/mL	.2401667	.0061117	,000	.219638	.260695
	1.2 mg/mL	.3399000	.0061117	,000	.319371	.360429
0.4 mg/mL	0.1 mg/mL	-.1170667	.0061117	,000	-.137595	-.096538
	0.2 mg/mL	-.1037000	.0061117	,000	-.124229	-.083171
	0.4 mg/mL	-.0914000	.0061117	,000	-.111929	-.070871
	0.8 mg/mL	.1487667	.0061117	,000	.128238	.169295
	1.2 mg/mL	.2485000	.0061117	,000	.227971	.269029
0.8 mg/mL	0.1 mg/mL	-.2658333	.0061117	,000	-.286362	-.245305
	0.2 mg/mL	-.2524667	.0061117	,000	-.272995	-.231938
	0.4 mg/mL	-.2401667	.0061117	,000	-.260695	-.219638
	0.8 mg/mL	-.1487667	.0061117	,000	-.169295	-.128238
	1.2 mg/mL	.0997333	.0061117	,000	.079205	.120262
1.2 mg/mL	0.1 mg/mL	-.3655667	.0061117	,000	-.386095	-.345038
	0.2 mg/mL	-.3522000	.0061117	,000	-.372729	-.331671
	0.4 mg/mL	-.3399000	.0061117	,000	-.360429	-.319371
	0.8 mg/mL	-.2485000	.0061117	,000	-.269029	-.227971
	1.2 mg/mL	-.0997333	.0061117	,000	-.120262	-.079205

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 10. Extracto seco del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f.



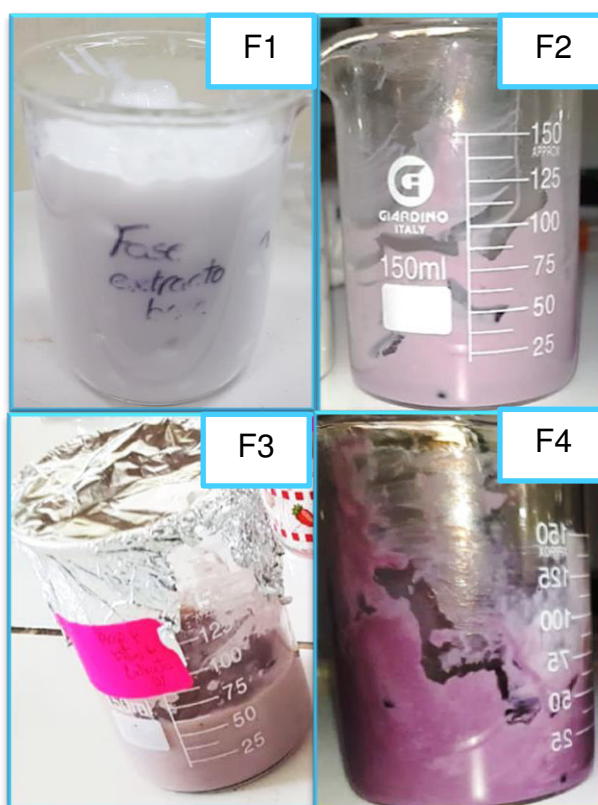
ANEXO 11. Muestras centrifugadas de las cremas (estabilidad preliminar).



ANEXO 12. Obtención de la crema base.



ANEXO 11. Pre-formulación de las cremas que contiene el extracto de *Dioscorea trifida* L.f.



Crema Base	F1	Crema base
Extracto de <i>Dioscorea trifida</i> L.f. "sacha papa morada"	F2	Crema base + extracto al 1%
	F3	Crema base + extracto al 3%
	F4	Crema base + extracto al 5%